

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FARMACEUTSKO-BIOKEMIJSKI FAKULTET

Tena Havrda Perić

MIKROIGLE ZA (TRANS)DERMALNU PRIMJENU LIJEKA

Specijalistički rad

Zagreb, 2018.

PSS studij: Poslijediplomski specijalistički studij Razvoj lijekova

Mentor rada: doc. dr. sc. Ivan Pepić

Specijalistički rad obranjen je dana 28.11.2018. godine na Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu, Domagojeva 2, Zagreb, pred povjerenstvom u sastavu:

1. Dr. sc. Jelena Filipović-Grčić, prof., Farmaceutsko-biokemijski fakultet, Sveučilište u Zagrebu
2. Dr. sc. Ivan Pepić, doc., Farmaceutsko-biokemijski fakultet, Sveučilište u Zagrebu
3. Dr. sc. Marjana Dürriegl, znanstv. sur., PLIVA Hrvatska d.o.o., Zagreb

Rad ima 83 lista.

PREDGOVOR

Ovaj specijalistički rad prijavljen je na Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu i izrađen na Zavodu za farmaceutsku tehnologiju pod stručnim vodstvom doc. dr. sc. Ivana Pepića.

Zahvaljujem mentoru Ivanu Pepiću na stručnoj podršci pri izradi ovog specijalističkog rada.

Zahvaljujem poslodavcu PLIVA koji me uputio na stručno usavršavanje.

Zahvaljujem svojoj obitelji na podršci i strpljenju tijekom studiranja.

SAŽETAK

Cilj istraživanja

Cilj ovog specijalističkog rada je opisati bitne značajke i posebnosti mikroigli kao suvremenih načina (trans)dermalne primjene lijekova. Primjenom tekućih ili polučvrstih farmaceutskih oblika lijekova uz pomoć mikroigli moguće je u značajnoj mjeri poboljšati ishod liječenja u odnosu na konvencionalne načine intramuskularne i supkutane primjene lijeka.

Materijali i metode

Provedena istraživanja u okviru ovoga specijalističkog rada su teorijskog karaktera i uključuju detaljan pregled dostupne literature prema temi istraživanja, predmetu istraživanja, autorima i časopisu. Pretraživati će se od općih prema specijaliziranim člancima pri čemu će se odabirati članci relevantni za problematiku ovoga specijalističkog rada.

U pretraživanju su korištene dostupne bibliografske baze podataka i servisi: PubMed, ScienceDirect i ResearchGate, te baze podataka dostupne na web stranicama FDA, EMA – e i ICH.

Rezultati

Koža je idealno mjesto za lokalnu i sistemsku primjenu lijekova. Iako je TDD neinvazivna metoda dostave lijeka i osigurava određene prednosti u odnosu na oralnu i parenteralnu primjenu, koža je impresivna barijera za prodiranje većine lijekova. Kako bi se svladala kožna barijera te olakšao brzi i učinkoviti prijenos šireg raspona molekula, već dugi niz godina razvijaju se odgovarajuće strategije i različiti sustavi za transdermalnu dostavu lijekova. Mikroigle predstavljaju napredan i učinkovit sustav za TDD koji osim bezbolne primjene posjeduje i razne druge prednosti u odnosu na druge postupke primjene lijeka kroz

kožu. Najznačajnije prednosti su izbjegavanje razgradnje lijeka u probavnom sustavu, zaobilazanje prvog prolaska kroz jetru, poboljšana bioraspoloživost, primjena niže doze lijeka te dobra podnošljivost bez eritema ili edema. Nedostaci primjene lijekova mikroiglama su manja preciznost doziranja u odnosu na supkutanu primjenu, kao i varijabilnost dubine penetracije MN ovisno o individualnim razlikama u debljini SC i drugih slojeva kože. Također, koža pruža otpor pri penetraciji mikroigli u kožu. MN se mogu podijeliti čvrste, šuplje i hidrogel formirajuće MN, koje su relativno nova vrsta MN. Svaka vrsta MN ima određene karakteristike, prednosti, ali i nedostatke. Iako postoji tržište za industrijsku proizvodnju MN još uvijek ne postoje prihvaćeni regulatorni standardi kao ni jasni standardi kvalitete jer još uvijek komercijalno nisu dostupne prave MN.

Zaključak

Mikroigle se mogu uspješno koristiti za ciljanu isporuku malih molekula, makromolekula, cjepiva i nukleinskih kiselina u specifična tkiva, te za primjenu lijekova koji se prenose pasivnom difuzijom kroz SC. Zbog mnogobrojnih prednosti primjene mikroigli znanstvenici pokazuju veliko zanimanje za tehnologiju mikroigli što pokazuje brzorastući broj znanstvenih radova i patentnih publikacija pa je njihova primjena proširena i na okularnu i ciljanu dostavu lijekova.

Tržište za uspješnu industrijsku proizvodnju mikroigli postoji, ali industrijska proizvodnja još uvijek nije u potpunosti istražena zbog težine prebacivanja proizvodnje iz laboratorijskih veličina serija u komercijalne te zbog ne postojanje prihvaćenih regulatornih standarda ni jasno definiranih standarda kvalitete.

EMA je objavila novi dokument o izradi smjernica o zahtjevima kvalitete lijekova koji sadrže medicinski proizvod za dostavu ili uporabu lijeka „EMA/CHMP/QWP/BWP/661488/2016 *Concept paper on developing a guideline on Quality requirements of medicinal products containing a device component for delivery or use of the medicinal product*“. Mikroigle mogu prodrijeti i kroz naudaljenije slojeve kože što ukazuje na drugačiji mehanizam djelovanja

naspram konvencionalnih transdermalnih flastera koji se primjenjuju samo na površinu kože te se iz regulatorne perspektive može zaključiti da će biti definirane kao novi dozni oblik.

SUMMARY

Objectives

The aim of this paper is to describe the essential characteristics and features of microneedles as modern transdermal drug delivery system. Applications of liquid or semi-solid pharmaceutical formulation by microneedles improve the outcome of the treatment compared to conventional methods (im. sc.) significantly. biopharmaceutical peculiarities of inhaled medicinal products and contribute to the understanding of guidelines for preparation of documentation for marketing authorization laid down by the European Medicines Agency (EMA), which are related to drug development, production, quality control and stability testing.

Materials and Methods

Research of this work is theoretical and detailed search of available literature was done by topic and subject of research, authors and journals from general to specialized articles and guidelines relevant to the issues of this paper. The following bibliographic databases and services were researched: PubMed, ScienceDirect and ResearchGate and databases available on the website of the FDA, EMA and ICH.

Results

For thousands of years the preparations are applied to the skin because the skin is an ideal place for local and systemic drug administration. Although TDD is a non-invasive drug delivery method and provides certain advantages over oral and parenteral administration, skin is an impressive barrier to penetrate most of the drugs. For many years scientist are developing strategies and various transdermal delivery systems in order to overcome the

skin barrier and to facilitate rapid and effective leakage of the broader range of molecules. MN presents an advanced and effective TDD system that, besides painless applications, also has various other advantages over other methods of drug administration. The most important advantages are avoiding degradation of the drug in the gastrointestinal system, bypassing the first passage through the liver, improved bioavailability, lower doses of the drug and good tolerability without erythema or edema. The disadvantages of TDD by MN are lower dosage precision compared to subcutaneous administration, as well as MN penetration variability depending on the individual differences in the thickness of SC and other skin layers. Also, the skin provides resistance to penetration of the MN into the skin. MN can be divided into solid, hollow and hydrogel-forming MN, which is a relatively new species of MN. Each type of MN has certain characteristics, advantages and disadvantages. Although there is a market for mass production of MN, regulatory standards and clear quality standards are not defined since the actual MN is still not commercially available.

Conclusion

Microneedles can be successfully used for the targeted delivery of small molecules, macromolecules, vaccines and nucleic acids into specific tissues, and for the use of drug products that pass by passive diffusion through the SC. Due to the numerous advantages of microneedles, increasing interest of microneedle technology is registered which results with rapidly growing number of scientific papers and patent publications, so application of microneedles has been extended to both, ocular and targeted delivery of drug products. The market for successful mass production of microneedles exists, but mass production has not yet been fully explored due to the difficulty of transferring production from laboratory to commercial batches, and because of the lack of accepted regulatory standards or clearly defined quality standards.

EMA has published a new concept document on the development of guidelines on the quality requirements of medicines containing a medicinal product for the delivery or use of the

medicinal product „EMA/CHMP/QWP/BWP/661488/2016 Concept paper on developing a guideline on Quality requirements of medicinal products containing a device component for delivery or use of the medicinal product“.

Microneedles can penetrate through the outermost layers of the skin indicating a different mechanism of action compared to conventional transdermal patches that apply only to the skin surface and from a regulatory perspective, it can be concluded that the MN will be defined as a new dosage form.

POPIS KRATICA

BSA	Albumin goveđeg seruma (engl. bovine serum albumin)
CE	Europska sukladnost (engl. European Conformity)
CHMP	Povjerenstvo za lijekove za humanu primjenu Europske agencije za lijekove (engl. Committee for Medicinal Products for Human Use)
CLIP	Kontinuirana tekuća proizvodnja (engl. Continuous Liquid Interface Production)
CMC	Karboksimetil celuloza
CP	Centralizirani postupak (engl. Centralized Procedure)
CTD	Zajednička tehnička dokumentacija (engl. Common Technical Document)
DAB	Oblikovanje iz kapljica sušenjem zrakom (engl. Droplet-Born Air Blowing)
DLP	Digitalna obrada svjetlosti (engl. Digital Processing Light)
DMF	Dimetilformamid
DMSO	Dimetilsulfoksid
DNA	Deoksiribonukleinska kiselina
EEZ	Europska ekonomska zajednica
EMA	Europska agencija za lijekove (engl. European Medicines Agency)
EU	Europska unija (engl. European Union)
FDA	Američka Agencija za hranu i lijekove (engl. The Food and drug Administration)
GMP	Dobra proizvođačka praksa (engl. Good Manufacturing Practice)
HALMED	Hrvatska agencija za lijekove i medicinske proizvode (engl. Agency for Medicinal Products and Medical Devices of Croatia)
ICH	Međunarodna konferencija o usklađivanju tehničkih zahtjeva za lijekove (engl. The International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use)
MEMS	Mikroelektromehanički sustav (engl. Microelectromechanical systems)
MN	Mikroigle (engl. Microneedles)
NFIT	Tehnologija bezigličnih injektora (engl. Needle Free Injection Technology)
OFC	Ured za kombinirane proizvode (engl. Office of Combination Products)
PC	Polikarbonat
PGA	Poliglikolna kiselina

PIL	Uputu o lijeku (engl. Patient Information Leaflet)
PLA	Polilaktatna kiselina
PLGA	Polilaktatna-glikolna kiselina
PMMA	Polimetilmetakrilat
PVA	Polivinilalkohol
PVM/MA kopolimer	Kopolimer maleinske kiseline i metil vinil etera
PVP	Polivinilpirolidon
RF	Radiofrekvencija (engl. radio frequency)
SC	Rožnati sloj kože (lat. stratum corneum)
SmPC	Sažetak opisa svojstava lijeka (engl. Summary of Product Characteristics)
TDD	Transdermalna primjena lijeka (engl. Transdermal Drug Delivery)
TDDS	Transdermalni sustavi za primjenu lijeka (engl. Transdermal Drug Delivery System)
UV	Ultraljubičasto zračenje (engl. Ultraviolet radiation)
UZV	Ultrazvuk
WHO	Svjetska zdravstvena organizacija (engl. World Health Organization)
2PP	Dvofotonska polimerizacija (engl. Two-Photon Polymerisation)

SADRŽAJ

1.	UVOD I PREGLED PODRUČJA ISTRAŽIVANJA	1
1.1.	Transdermalna primjena lijeka	2
1.1.1.	Permeacijski proces i poželjna svojstva djelatne tvari za transdermalnu primjenu	2
1.1.2.	Prednosti i nedostaci transdermalne primjene lijeka.....	3
1.2.	Transdermalni sustavi za primjenu lijeka.....	5
1.2.1.	Prva generacija TDDS	8
1.2.2.	Druga generacija TDDS	9
1.2.3.	Treća generacija TDDS.....	13
1.2.4.	Četvrta generacija TDDS	18
2.	CILJ ISTRAŽIVANJA	22
3.	MATERIJAL I METODE - SUSTAVNI PREGLED SAZNANJA O TEMI.....	24
3.1.	Mikroigle za transdermalnu primjenu.....	26
3.2.	Vrste mikroigli	28
3.2.1.	Čvrste mikroigle	28
3.2.1.1	„Poke with patch“ pristup.....	29
3.2.1.2	„Poke and release“ pristup	30
3.2.1.3	„Coat and poke“ pristup.....	31
3.2.2.	Šuplje mikroigle	32
3.2.3.	Hidrogel formirajuće mikroigle.....	33
3.3.	Materijali za izradu mikroigli	35
3.3.1.	Silicij	36
3.3.2.	Metali	37
3.3.3.	Keramika	38
3.3.4.	Polimerni materijali.....	39
3.3.5.	Ugljikohidrati	40
3.4.	Tehnologije za izradu mikroigala.....	41
3.4.1.	Metoda oblikovanja mikroigli iz kapljica koje se suše zrakom (engl. <i>Droplet-Born Air Blowing</i> , DAB)	44
3.4.2.	Metoda proizvodnje mikroigli kontinuiranom tekućom proizvodnjom (engl. <i>Continuous Liquid Interface Production</i> , CLIP).....	45
3.4.3.	Proizvodnja mikroigli dvofotonskom polimerizacijom (engl. <i>Two-Photon Polymerisation</i> , 2PP)	47
3.5.	Geometrija mikroigli	48
3.6.	Prednosti i nedostaci TDD mikroiglama	51
3.6.1.	Prednosti	51
3.6.2	Nedostaci.....	53

3.7.	Regulatorni aspekt TDD mikroiglama.....	55
4.	RASPRAVA	63
5.	ZAKLJUČAK	69
6.	LITERATURA	71
7.	ŽIVOTOPIS.....	81

1. UVOD I PREGLED PODRUČJA ISTRAŽIVANJA

1.1. Transdermalna primjena lijeka

Koža je najveći, sofisticiran i dinamičan ljudski organ koji predstavlja idealno mjesto za lokalnu i sistemsku primjenu lijekova. Istodobno, kožna barijera ograničava prijenost brojnih djelatnih tvari (1, 2).

Transdermalna primjena lijeka (engl. *Transdermal Drug Delivery*, TDD) predstavlja neinvazivnu metodu dostave lijeka kroz kožu u sistemsku cirkulaciju (3). Lijek prolazi kroz rožnati sloj (lat. *stratum corneum*, SC) i ulazi u dublji epidermis i dermis, ali se ne akumulira u dermalnom sloju nego je raspoloživ za sistemsku apsorpciju preko dermalne mikrocirkulacije (4).

Transdermalni sustavi za primjenu lijeka (engl. *Transdermal Drug Delivery System*, TDDS), također poznati kao transdermalni flasteri, farmaceutski su oblici osmišljeni za isporuku terapijski učinkovite količine djelatne tvari u sistemsku cirkulaciju preko kože bolesnika (5,6).

1.1.1. Permeacijski proces i poželjna svojstva djelatne tvari za transdermalnu primjenu

Nekoliko je različitih putova prolaska djelatne tvari kroz kožu, a oni uključuju difuziju (transcelularni i intercelularni prolazak) te prolazak putem ili kroz žlijezde znojnice ili folikule dlaka (ekrini put) (7).

Opće prihvaćeno je da je intercelularni put glavni put prolaska malih molekula kroz kožu.

Intercelularni prostor grade lipidi međustaničnog matriksa rožnatog sloja koji su organizirani u lamele tako da organizacija lipida određuje koja fizičko-kemijska svojstva mora imati molekula djelatne tvari za brzu difuziju kroz kožu. Općenito, pogodni kandidati za uspješan pasivan transdermalni prijenos su male molekule (molekularne mase <500 Da) s dobrom topljivošću u vodi (> 100 g/ml) i lipidima (log P 1-3,5) uz dnevne doze < 10 mg. Poželjne značajke djelatne tvari su često također i nisko talište < 200 °C (8, 9).

Djelatne tvari rijetko prolaze kroz kožu putem žlijezda znojnice, zbog njihove vijugave putanje i nepovoljnog utjecaja znoja. Folikuli dlaka zauzimaju oko 0,1 % ukupne površine kože i zbog toga se pretpostavljalo da je to nebitan put za isporuku lijekova, ali su novije studije pokazale da, usprkos maloj površini, folikuli dlaka imaju važnu ulogu u prijenosu nanočestica jer služe kao njihova skladišta. Ispitivanja topikalne primjene nanočestica polistirena na ljudskoj i svinjskoj koži pokazuju da se nanočestice polistirena (prvenstveno čestice manje veličine) nakupljaju u folikulima dlaka. U novije vrijeme je isporuka lijeka putem folikula dlaka u fokusu istraživanja zbog činjenice da je takva isporuka od velikog interesa za liječenje kožnih bolesti. Pokazano je i da se nanočestice mogu koristiti kao učinkoviti nosači djelatne tvari kroz folikul dlake ili mogu biti blokatori folikularnog prijenosa u svrhu ograničavanja prodiranja topikalno primijenjenih tvari (10, 11).

Niz fizioloških čimbenika kao što su dob, mjesto primjene, etničke razlike, spol i bolesti kože utječu na kožnu barijeru, tj. brzinu penetracije i permeacije lijeka kroz kožu (1).

Procjenjuje se da je vjerojatnost pronalaska prikladne djelatne tvari za transdermalnu primjenu i dizajniranje transdermalnog sustava 1:1000 (12).

1.1.2. Prednosti i nedostaci transdermalne primjene lijeka

Najznačajnije prednosti TDD nad ostalim načinima primjene uključuju neinvazivnost primjene, izbjegavanje razgradnje lijeka u probavnom sustavu i iritacije probavnog sustava, zaobilazanje prvog prolaska kroz jetru što ima za rezultat poboljšanu bioraspoloživost lijeka. (3, 8, 13). Zaobilazanjem prvog prolaska kroz jetru omogućena je primjena niže doze djelatne tvari i smanjena učestalost doziranja; dizajnirani su transdermalni sustavi koji omogućuju isporuku lijeka u periodu od 1 do 7 dana. Iz razloga što TDDS mogu osigurati isporuku lijeka i kroz 7 dana, uspoređujući TDD s drugim putovima primjene, na mjesečnoj bazi transdermalni terapijski sustavi su jeftiniji (11).

Manje učestalo doziranje rezultira poboljšanom suradljivošću pacijenata u provođenju terapije. Transdermalnom primjenom lijeka koncentracija lijeka u krvnoj plazmi je smanjena

te je smanjena pojava nuspojava lijeka povezanih sa sustavnom izloženošću (3, 8, 13). Takav put primjene lijeka pruža alternativu u slučajevima kada oralno doziranje nije moguće, npr. kod pacijenata bez svijesti ili pacijenta koji imaju mučnine (14).

Injekcije omogućuju jeftin, brz i izravan način isporuke gotovo bilo koje djelatne tvari u tijelo. Međutim, potkožne igle ne mogu lako koristiti sami pacijenti i stoga se koriste prvenstveno ambulantno ili kod kuće od strane pacijenata koji su obučeni o pravilnom načinu ubrizgavanja i sigurnom uklanjanju igle (15). Također, primjena lijeka pomoću potkožne igle praćena je bolom (16, 17). Širenje patogena koji se prenose krvlju ponovnim korištenjem igle jedan je od glavnih nedostataka, posebno u zemljama u razvoju. Iako oralna primjena u velikoj mjeri prevladava takve probleme, mnogi lijekovi se ne mogu primjenjivati takvim putem zbog već spomenutih razloga slabe apsorpcije i razgradnje lijeka u probavnom sustavu i jetri (15).

Iritacija i senzibilizacija kože su „Ahilova peta“ TDD. Budući da je koža imunološka prepreka, kao odgovor na izloženost podražajima (lijevak, pomoćne tvari, adhezivi flastera,...) može se pojaviti eritem, svrbež i lokalni edem (14). Nakon što djelatna tvar uspije prodrijeti u SC, može se prerano razgraditi enzimima epidermisa, što rezultira smanjenom biološkom raspoloživosti. Kašnjenje u početku djelovanja, kao i nedostatak farmakokinetičke kontrole također može ugroziti pouzdanost transdermalne primjene (18). Osim iritacije kože te moguće razgradnje djelatne tvari enzimima epidermisa, nedostaci transdermalne primjene su i troškovi proizvodnje te estetska prihvatljivost (9, 18). Adhezivi koji se koriste ne mogu dobro prijanjati na sve tipove kože, a na primjer zbog loše adhezivnosti flastera može doći do njegovog odljepljivanja i prijenosa na druge osobe, a posljedice mogu biti fatalne (5).

Proizvodnja TDDS zahtjeva specijaliziranu opremu što rezultira većom cijenom gotovog proizvoda koja neće biti prihvatljiva većini pacijenata. Kod transdermalnog načina primjene postoji i vrijeme kašnjenja u prijenosu djelatne tvari kroz kožu do sistemske cirkulacije što nije prihvatljivo za lijekove koji zahtijevaju brzo djelovanje (11).

Iako koža predstavlja idealno mjesto za primjenu djelatnih tvari s ciljem postizanja lokalnog ili sistemskog učinka, molekularna arhitektura i sastav SC ograničava broj djelatnih tvari koje se mogu dostaviti takvim načinom primjene (2, 19).

Većina novih djelatnih tvari su velike, hidrofilne i nabijene molekule te kao takve nisu pogodne za transdermalnu primjenu (8).

1.2. Transdermalni sustavi za primjenu lijeka

Istraživanja TDD počinju 1960-tih, a 1971. godine odobren je US patent nazvan „Bandage for Administering Drugs“, prvi transdermalni sustav za prevenciju i liječenje mučnine vezanih za bolest putovanja (Alza) (9, 12, 20).

Transdermalni flaster je bio dizajniran na način da je imao spremište skopolamina i mikroporoznu membranu koja je kontrolirala isporuku i omogućavala kontrolirano oslobađanje skopolamina. Skopolaminski transdermalni flaster je prvi puta ispitan na zaposlenicima Alza korporacije tijekom plovidbe jedrilicom. Zaposlenici s placebo transdermalnim flasterom imali su simptome bolesti putovanja, dok je većina zaposlenika sa skopolaminskim transdermalnim flasterom bila bez simptoma (20). Nakon toga provedena su kontrolirana ispitivanja i skopolaminski flaster je prvi puta odobren za primjenu na američkom tržištu 1979 (4). Glavna pretpostavka Alza korporacije je bila da terapijski sustav kontrolira ulaz djelatne tvari u krvotok, a ne koža. Precizno kontrolirana dostava u sistemsku cirkulaciju kroz intaktnu kožu ne samo da je postigla adekvatan terapijski učinak, nego je i smanjila nuspojave središnjeg živčanog sustava kao što su pospanost i zbunjenost (20).

Povijesno gledano, raniji razvoj TDD bio je usmjeren na prevladavanje problema povezanih sa svojstvima barijere kože, smanjenja iritacije kože i poboljšanju estetike povezane s pasivnim sustavima flastera. Razvoj TDD novijeg datuma usmjeren je na razvoj sustava za pomoć dostave većih molekula djelatne tvari, kao što su proteini i nukleotidi, a što je povezano s trendom otkrivanja i dizajniranja bioloških lijekova (9).

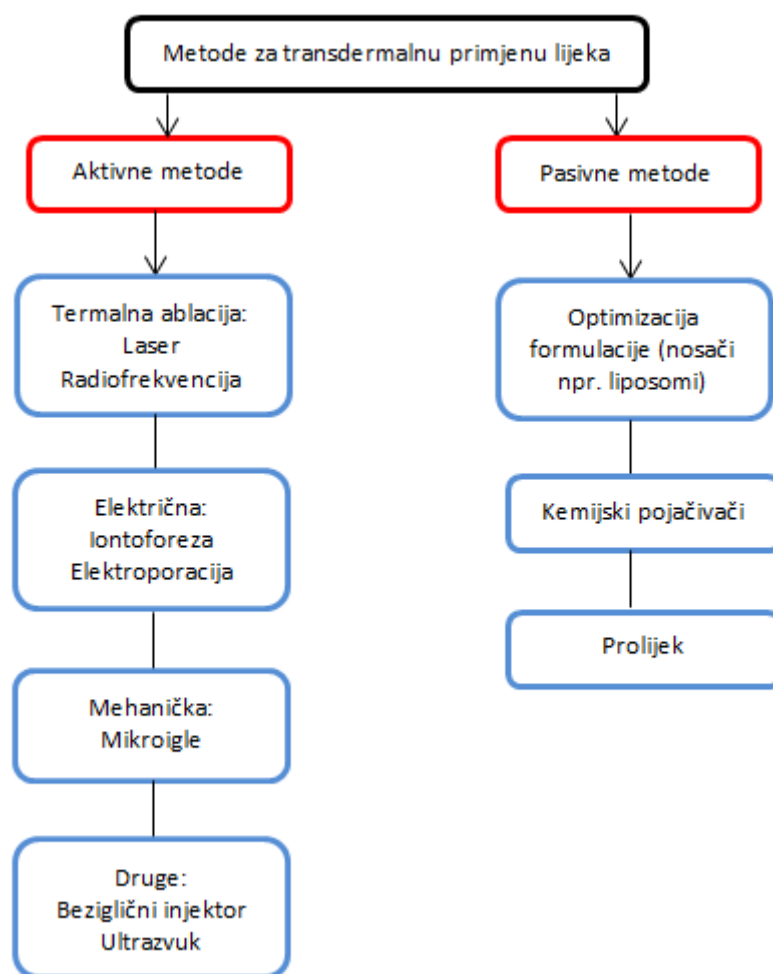
Tijekom proteklih nekoliko desetljeća provedene su brojne studije u svrhu prevladavanja prepreka povezanih s primjenom lijeka kroz kožu (16). Značajan napor je posvećen razvoju strategija i tehnologija za prevladavanje barijere intaktne ljudske kože. Tehnike poboljšanja prijenosa djelatne tvari kroz kožu također su razvijane kako bi se poboljšala bioraspodijeljenost djelatne tvari i kako bi se što veći broj lijekova mogao primjenjivati topikalno i transdermalno (21).

Tehnike koje su se pojavile tijekom godina mogu se podijeliti u pasivne/kemijske i aktivne/fizičke metode (Slika 1.) (16, 20).

Pasivne metode za poboljšanje isporuke djelatnih tvari tj. pasivni načini optimiranja transdermalne primjene lijeka uključuju prilagodbu međudjelovanja lijeka i nosača te prilagodbu svojstava SC. Optimiranja transdermalne primjene lijeka prilagodbom međudjelovanja lijeka i nosača moguće je primjenom odgovarajućeg lijeka ili prolijeke, primjenom nosača djelatnih tvari kao što su liposomi i vezikule, primjenu prezasićenih oblika lijekova itd. Optimiranja transdermalne primjene lijeka prilagodbom svojstava SC uključuju hidrataciju te primjenu kemijskih pojačivača koji djeluju na lipide i keratin u SC (21).

Razvoj i primjena biotehnologije u drugoj polovici 20. stoljeća rezultira polarnim i hidrofilnim djelatnim tvarima velikih molekularnih težina (> 500 Da), uglavnom peptida i proteina. Primjenom takvih molekula oralnim putem došlo bi do njihove razgradnje enzimima u probavnom sustavu. Budući da takve velike molekule nije moguće dostaviti kroz kožu pasivnim metodama, javila se potreba za razvojem aktivnih metoda prijenosa djelatnih tvari. Aktivne metode uključuju upotrebu vanjske energije kao pokretačke snage za prijenos djelatne tvari kroz kožu ili za fizičko narušavanje strukture SC (14).

Aktivne tj. fizičke metode koje se mogu koristiti za poboljšanu isporuku djelatnih tvari transdermalnim putem su iontoforeza, elektroporacija, ultrazvuk (sonoforeza), mikroigle (22). Jedan od načina poboljšanje isporuke djelatnih tvari je i otklanjanje SC. Budući da je potrebna značajno visoka razina energije za otklanjanje SC potrebno je pažljivo kontrolirati amplitudu i vrijeme izlaganja primijenjene energije kako ne bi došlo do oštećenja unutarnjih slojeva kože. Jedna od aktivnih metoda koja se koristi je termalna ablacija (18).

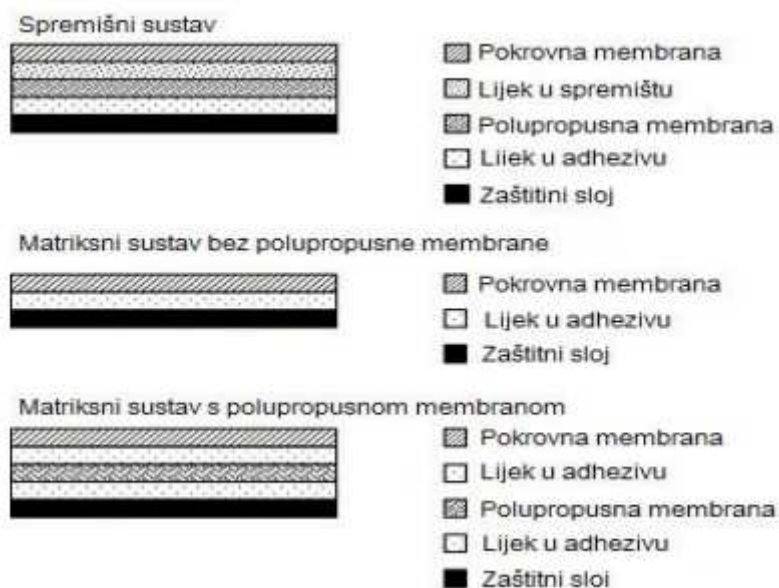


Slika 1. pristupi za poboljšanje isporuke djelatne tvari kroz kožu (prilagođeno prema literaturnom navodu 4).

S ciljem prevladavanja ograničenja i osiguravanja što bolje transdermalne dostave lijeka razvijaju se različiti terapijski sustavi za transdermalnu dostavu lijeka. Pri njihovom razvoju fokus je bio na razvoju odgovarajućih formulacija, uporabe vanjskog djelovanja te razvoja minimalno invazivnih mikroigala (engl. microneedle, MN), a inovativnost je vidljiva kroz nekoliko generacija (18).

1.2.1. Prva generacija TDDS

U slučaju tradicionalnih transdermalnih flastera (TDDS prve generacije) dostava lijeka bazirana je na difuziji (18, 23). Dvije su osnovne vrste transdermalnih flastera; spremišni sustavi i matriksni sustavi s ili bez propusne membrane (Slika 2.) (4, 5).



Slika 2. Vrste transdermalnih flastera (prilagođeno prema literaturnom navodu 5).

Spremišni transdermalni flaster u pravilu je građen od vanjskog zaštitnog sloja, pokrovne membrane, koja je nepropustan za vodu te služi kao zaštita za formulaciju. Na površinskom dijelu gdje se oslobađa djelatna tvar također se nalazi zaštitni sloj koji se uklanja prije primjene flastera na kožu. Između ta dva zaštitna sloja nalazi se spremišni sustav s formulacijom, zatim polupropusna membrana koja kontrolira oslobađanje djelatne tvari iz formulacije i njenu difuziju preko adhezivnog sloja u sistemsku cirkulaciju. Djelatna tvar prolazi kroz propusnu membranu sve dok koncentracija u adhezivnom sloju ne bude jednaka koncentraciji u spremištu (6).

Noviji dizajn transdermalnih flastera su matriksni sustavi kod kojih se adheziv i formulacija nalaze u istom sloju. Ostali slojevi su isti kao i kod spremišnog tipa flastera: pokrovna membrana te zaštitni sloj (6, 23). Ako se radi o matriksnom sustavu s polupropusnom membranom, membrana je smještena između dva sloja adheziva u kojima se nalazi formulacija (5).

Prva generacija TDDS usredotočena je na prilagodbu fizičko-kemijskih značajki djelatnih tvari i optimiranje formulacije kako bi se omogućila njihova maksimalna difuzija kroz kožu (18). Primjer TDDS prve generacije je CATAPRES-TTS[®], transdermalni flaster u čijem spremištu se nalazi otopljeni djelatna tvar, klonidin, koja procesom difuzije izlazi iz spremišta i kroz kožu dolazi u sistemsku cirkulaciju. CATAPRES-TTS[®] transdermalni flaster koristi se u liječenju hipertenzije i osigurava kontinuiranu sistemsku isporuku klonidina kroz 7 dana približno konstantnom brzinom (23, 24). Broj djelatnih tvari koji su prikladni za oblikovanje u oblik transdermalnog flastera je ograničen zbog barijernih značajki kože. Velika većina transdermalnih djelatnih tvari prve generacije vrlo je lipofilna te uključuje molekule malih veličina i molekulskih težina (do 400 Da). S obzirom na ograničenu raznolikost TDDS prve generacije, javila se potreba za razvojem sustava koji će omogućiti primjenu što više djelatnih tvari transdermalnim putem kako bi se poboljšala učinkovitost njihove dostave (18).

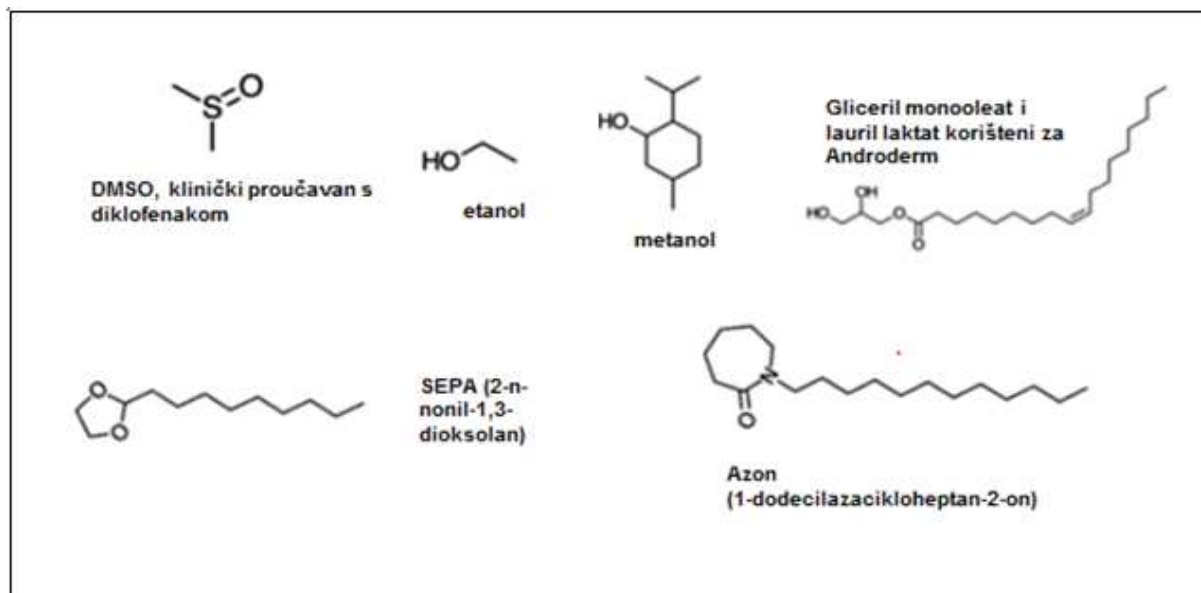
1.2.2. Druga generacija TDDS

Druga generacija TDDS uključuje neinvazivnu dostavu uz maksimalno povećanje prijenosa djelatne tvari kroz kožu pomoću kemijskih pojačivača ili vanjskih izvora energije kao što su ne-kavitacijski ultrazvuk i iontoforeza (17, 18).

Metode koje koriste TDDS druge generacije prvenstveno poboljšavaju dostavu uglavnom malih molekula za lokalne, dermatološke, kozmetičke i neke sistemske primjene zbog želje da se zaštiti dublje tkivo od oštećenja (17).

Kemijski pojačivači prijenosa kroz kožu razvijani i korišteni za strategije TDDS druge generacije omogućuju prodiranje djelatne tvari kroz kožu povećanjem topljivosti djelatne tvari

i stvaranjem interakcija s proteinima kože. Trenutno su dostupni kemijski pojačivači prijenosa kao što su urea i masne kiseline, ali i oni koji uzrokuju iritacije kože kao što su dimetil sulfoskid (DMSO) i dimetilformamid (DMF) (18). Proučeno je stotine različitih kemijskih pojačivača uključujući i one koji su posebno dizajnirani i sintetizirani za tu svrhu kao što su Azon (1-dodecilazacikloheptan-2-on) i SEPA (2-n-nonil-1,3-dioksolan) (Slika 3.) (17).



Slika 3. Shematski prikazi kemijskih pojačivača dermalnog prijenosa djelatne tvari (prilagođeno prema literaturnom navodu 23).

Jednu od glavnih strategija u neinvazivnoj TDD čine emulzije jer otapaju velik broj lipofilnih i hidrofilnih djelatnih tvari te povećavaju njihovu topljivost u transdermalnoj formulaciji. Apsorpcijski profil emulzije određen je veličinom kapljica disperzne faze, sastavom i površinskim nabojem. Vrlo popularno je smanjenje čestica nosača do mikrometarske i nanometarske veličine jer manje kapljice imaju bolje značajke prijenosa uklopljene djelatne tvari (18). Kao nosači djelatnih tvari, mikroemulzije su široko primjenjivane za transdermalnu i dermalnu isporuku. Mikroemulzije se oblikuju spontano s odgovarajućim količinama lipofilnih i hidrofilnih sirovina te surfaktantom i kosurfaktantom. Glavne prednosti mikroemulzija kao TDD uključuju veliki potencijal topljivosti za hidrofilne lijekove

mikroemulzijskih sustava, učinak pojačavanja propusnosti sastojaka mikroemulzija i povećanu termodinamičku aktivnost djelatne tvari u nosačima.

Mikroemulzije imaju nekoliko specifičnih fizičko-kemijskih značajki kao što su prozirnost, optička izotropija, niska viskoznost i termodinamička stabilnost. Većina mikroemulzija ima vrlo nisku viskoznost, što može ograničiti njihovu primjenu u području transdermalne primjene.

Nanoemulzije su dugotrajno stabilni (metastabilni) sustavi zbog izuzetno male veličine kapljica disperzne faze i uporabe odgovarajućih površinski aktivnih tvari. Hidrofobne i hidrofilne djelatne tvari mogu se uklopiti u nanoemulzije. Mogu se koristiti za primjenu lijeka na kožu ili sluznicu i općenito za parenteralne i neparenteralne načine primjene kao i u području kozmetičkih proizvoda. Trenutno, transdermalne nanoemulzijske formulacije nisu jednako razvijene kao npr. nanočestice ili liposomi zbog problema. Ipak, gama-tokoferol, kofein, plazmidna DNA, acetilsalicilatna kiselina, metilsalicilat, inzulin i nimesulid uklopljeni su u različite nanoemulzije.

Razne nanončestice kao što su liposomi, drugi vezikularni sustavi, lipidne nanočestice, nanostrukturirani lipidni nosači, polimerne nanočestice i magnetske nanočestice razvijene su za dermalnu i transdermalnu primjenu lijeka kao bi se poboljšao prijenos djelatnih tvari kroz kožu, omogućilo njihovo zadržavanje, a u nekim slučajevima kontrolirano oslobađanje. Glavne fizikičko-kemijske značajke koje utječu na (trans)dermalni prijenos su veličina, oblik, elastičnost i naboj na površini takvih nanočestica. Najčešće korišteni i istraženi nanonosači za dermalnu i transdermalnu primjenu djelatnih tvari uključuju liposome, transferosome, etosome, niosome, nanočestice, polimerne nanočestice te ranije spomenute nanoemulzije. (11). Prednosti i nedostaci uobičajenih transdermalnih nanonosača detaljno su prikazani Tablicom 1.

Tablica 1. Prednosti i nedostaci nanonosača za transdermalnu primjenu (prilagođeno prema literaturnom navodu 11).

Nanonosač	Prednosti	Nedostaci
Nanočestice	<ul style="list-style-type: none"> – Mogu biti izrađene od raznih biorazgradljiv materijala – Postoji mnogo različitih načina izrade – Mogu sadržavati antitijela na svojoj površini kako bi došli do ciljnih organa – I hidrofilni i hidrofobni lijekovi mogu se uklopiti u nanočesticu – Mogu izbjeći imunološki sustav zbog svoje veličine 	<ul style="list-style-type: none"> – Nije provedeno dovoljno toksikološka procjena – Poteškoće pri razvoju analitičkih metoda – Teško ne napraviti <i>scale up</i> za neke procese – Ponekad veličina koju dopiju nije dovoljna da izbjegne imunološki sustav
Nanoemulzije	<ul style="list-style-type: none"> – Konačni farmaceutski oblik mogu biti pjene, tekućine, kreme i sprejevi – Netoksični i neiritabilni su – Lako se nanosi na kožu i sluznicu 	<ul style="list-style-type: none"> – Osjetljive su na Oswaldovo zrenje – Naboj na površini ima značajan utjecaj na stabilnost – Varijabilna kinetika distribucijskih procesa i klirensa
Liposomi	<ul style="list-style-type: none"> – Kontrola oslobađanja na temelju prirodnih lipida – Visoka biokompatibilnost – Jednostavna proizvodnja – Proteinski nosači povećavaju stabilnost – Velika količina lijeka 	<ul style="list-style-type: none"> – Kada se upotrebljava visokotlačna homogenizacija, smanjena je stabilnost molekula velike molekulske mase – Kristalizacija lipida dovodi do puno polimorfnih problema – Varijabilna kinetika distribucijskih procesa – Oni su osjetljivi na fizičku nestabilnost
Transferomi, etosomi, niosomi	<ul style="list-style-type: none"> – Biorazgradljiva i niska toksičnost – Lako se pripremaju – Mekoća, elastičnost – Mogu uklapati hidrofilne i lipofilne molekule – Sposobnost ciljanja organa za dostavu lijeka – Izuzetno visoka fleksibilnost membrane 	<ul style="list-style-type: none"> – Predispozicija za oksidacijsku razgradnju – Čistoća prirodnih fosfolipida – Formulacije mogu biti skupe

Jedan od primjera nanonosača koji reagira na fizičko-kemijske podražaje i na taj način mu je poboljšana kontrola isporuke djelatne tvari je termoosjetljivi nanogel. Pri povišenju temperature od sobne do temperature površine kože značajno se povećava oslobađanje djelatne tvari. Transdermalni flaster koji ima ugrađen elastični nosač djelatne tvari primjer je kako mehanička sila može kontrolirati oslobađanje djelatne tvari iz flastera. Flaster se

pričvrstiti na zglobove prstiju te pri savijanju zglobova flaster je podvrgnut lateralnom naprezanju uslijed kojeg se oslobađa djelatna tvar (18).

Iontoforeza je neinvazivna metoda koja koristi električnu struju, uglavnom jakosti manje od $500 \mu\text{A cm}^{-2}$ za pojačavanje i kontrolu prijenosa nabijenih molekula djelatnih tvari kroz kožnu barijeru (18, 25).

Doza djelatne tvari se jednostavno kontrolira jakošću i trajanjem električne struje, a brzina isporuke djelatne tvari je proporcionalna jakosti električne struje (18, 23).

Iontoforetska primjena lijeka može se koristiti za ublažavanje boli, dijagnosticiranje upala, kroničnog edema, cistične fibroze te za kozmetičku primjenu (18, 25).

Neinvazivni TDDS ne povećavaju značajno učinkovitost primjene hidrofilnih djelatnih tvari i djelatnih tvari velike molekulske mase (primjerice proteina), ali može se reći da iontoforeza započinje prevladavanje jaza između TDDS druge i treće generacije jer se koristi za poboljšanje isporuke malih molekula, ali i bioloških molekula djelatnih tvari (18, 23).

1.2.3. Treća generacija TDDS

Ograničenja neinvazivne primjene lijeka sustavima druge generacije prepoznata su te je vrlo brzo prihvaćen alternativni pristup korištenja minimalno invazivne primjene lijeka koji ujedno predstavlja i TDDS treće generacije. Minimalno invazivna oštećenja kože uključuju odstranjenje SC do klinički sigurnog nivoa, a omogućuju učinkovitu isporuku velikog broja hidrofilnih i makromolekulskih djelatnih tvari kroz kožu. Oštećenja kože trebaju biti najmanja moguća te pažljivo kontrolirana kako bi se omogućio brzo oporavak kože, ali i spriječilo neželjeno oštećenje unutarnjih slojeva kože (18).

Novije tehnologije koje koriste TDDS treće generacije za poboljšanu isporuku djelatne tvari i za povećanje opsega molekula koje se mogu dostaviti kroz kožu uključuju iontoforezu, ultrazvučne (UZV) i laserske tehnike, uporabu raznih vrsta mikroigala te termalnu i radiofrekventnu (RF) ablaciju (17, 18, 23).

Ionoforeza može biti korištena za isporuku malih molekula kao što je fentanil, također se može koristiti i za isporuku većih molekula kao što su proteini i peptidi (23, 26).

Elektroporacija je, kao i iontoforeza, tehnika koja primjenjuje struju, a koristi se kao tehnika za povećanje dostave djelatne tvari kroz kožu (Slika 4a.). Elektroporacija uključuje kratkotrajnu primjenu visokonaponskih impulsa čime se povećava propusnost staničnih membrana otvaranjem vodenih pora na reverzibilan način (27). Korištenje kratkih, visokonaponskih impulsa dobro je poznato kao metoda reverzibilnog poremećaja staničnih membrana za transfekciju gena, ali je također pokazano da elektroporacija mijenja strukturu lipidnih dvosloja u koži. Iako se tijekom elektroporacije struja primjenjuje vrlo kratko, difuzija kroz nastale pore može trajati i do sat vremena što omogućuje transdermalni prijenos malih molekula, ali i makromolekula kao što su peptidi i proteini. Dokazana je učinkovita dostava modelnih peptida elektroporacijom kroz kožu miševa koja je izazvala željeni imunološki odgovor tj. snažan citotoksični odgovor T-limfocita, a koji je bio usporediv s onim koji se postiže primjenom intradermalne injekcije (17). Iako elektroporacija uključuje primjenu struje, kao i iontoforeza, potrebno je naglasiti da se načelno razlikuju. Iontoforesa djeluje izravno na samu djelatnu tvar tako da ju potisne u kožu, dok elektroporacija uglavnom djeluje na kožu kako bi promijenila njezinu propusnost (27).

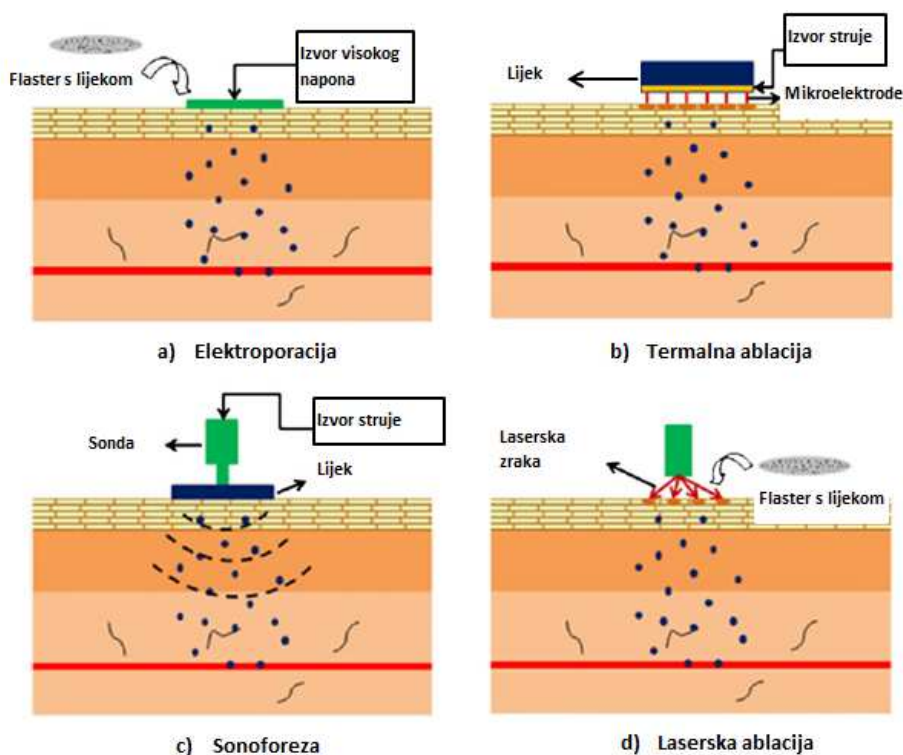
Sintov i suradnici pokazali su da se penetracija slabo permeabilnih djelatnih tvari (granisetron hidroklorida i diklofenak natrija) povećava ablacijom vanjskih slojeva kože uporabom uređaja koji koristi radiofrekventnu struju za stvaranje niza mikrokanala koji vode preko SC u epidermis. Dobiveni rezultati pokazali su da je permeabilnost obje djelatne tvari bila znatno veća nakon obrade kože radiofrekventnim mikroelektrodama u usporedni s rezultatima bez prethodne obrade kože (28).

Termalna ablacija selektivno zagrijava površinu kože do 100°C u vrlo kratkom vremenskom razdoblju (mikro - milisekundi) kako bi se stvorili bezbolni i reverzibilni mikrokanali u SC bez oštećenja ostalih slojeva kože (Slika 4b.) (17, 23).

Tvrtka Altea Therapeutics razvila je PassPort™ sustav koji kombinira termičku mikroporacijsku tehnologiju i tehnologiju flastera. Pomoću topline na površini kože stvaraju

se mikropore koje omogućuju isporuku djelatne tvari (čak i velikih molekulskih masa kao što su proteini) iz flastera bez upotrebe igala. Optimiranje broja i veličine pora te formulacije flastera omogućuje kontrolu brzine isporuke lijeka (23, 29, 30). Također, takva tehnologija ima potencijal za isporuku bioloških lijekova (27).

Sonoforeza uključuje korištenje niskofrekventnog ultrazvuka (20-100 kHz) ili visokofrekventnog ultrazvuka (0,7-16 MHz) za poboljšanje propusnosti kože (Slika 4c.) (19). Postoje dva moguća mehanizma kada se koristi UZV kao TDDS. Prvo je primjena zvučnih valova na kožu koja povećava fluidnost u lipidnom dvosloju i na taj način povećava propusnost kože za poboljšanje prijenosa malih molekula transcelularnim putem. Drugi mehanizam djelovanja koristi kavitaciju tj. formiranje malih mjehurića plina koji nastaju kao posljedica UZV djelovanja. Agregacijom i raspršenjem mjehurića na površini SC nastaju pore koje omogućuju transport većih molekula (23). Između ta dva učinaka, vjeruje se da je kavitacija prevladavajući mehanizam odgovoran za sonoforezu (31).



Slika 4. Shematski prikaz principa a) elektroporacije, b) termalne ablacije, c) sonoforeze i d) laserske ablacije (prilagođeno prema literaturnom navodu 26).

Magnetoforeza je metoda pojačavanja prijenosa djelatne tvari preko bioloških barijera primjenom magnetskog polja oko otopljene tvari koja se prenosi u kožu (32). Izlaganje kože magnetskom polju može također izazvati strukturne promjene koje bi mogle pridonijeti povećanju propusnosti, ali jedno od glavnih ograničenja takve metode je promjena svojstva SC (32, 33).

Provedene *in vitro* studije pokazale su da se prijenos benzojeve kiseline povećao povećanjem jakosti primijenjenog magnetskog polja. Također je opaženo povećanje prijenosa terbutalin sulfata iz transdermalnog flastera s pričvršćenim magnetom koje je usporedivo s učinkom kemijskog pojačivača izopropilnog miristata (4%) (34).

Konvencionalne injekcije predstavljaju vrlo popularni način primjene lijekova zbog već ranije spomenutih prednosti, ali su istodobno invazivna metoda primjene lijeka jer uzrokuju oštećenje tkiva s mogućnošću komplikacija. Kako bi se prevladale prepreke vezane uz konvencionalne injekcije, tehnologije bezigličnih injektora (engl. *Needle Free Injection Technology*, NFIT) popularne su tijekom proteklih godina jer nude razne prednosti u odnosu na konvencionalne injekcije.

Beziglični injektori namijenjeni su za injiciranje tekućih farmaceutskih oblika lijekova, ali i za primjenu lijekova i cjepiva u obliku čvrstih farmaceutskih oblika. Mehanizam NFIT uključuje potiskivanje komprimiranog plina kao što je ugljični dioksid ili dušik kako bi lijek prošao kroz otvor vrlo velikom brzinom. Primjenom lijeka putem NFIT uređaja ultrafini mlaz tekućine prodire kroz slojeve kože i vrlo brzo dostavlja lijek u cirkulaciju. Ukupno vrijeme potrebno za isporuku manje je od jedne trećine sekunde i odvija se u tri faze (faza vršnog pritiska, faza disperzije i faza odustajanja). Beziglični injektori osim što predstavljaju minimalno invazivnu metodu primjene lijeka i ne uzrokuju krvarenje ili modrice, pružaju brzu isporuku lijeka i bolju reproducibilnost, a samim time povećavaju bioraspoloživost djelatne tvari u usporedbi s invazivnim sustavima za primjenu lijeka. Također osiguravaju bolju stabilnost lijeka tijekom skladištenja jer se čuvaju u obliku suhog praha posebno za lijekove osjetljive na vodu. Primjenom beziglični injektora poboljšan je imunološki odgovor na cjepiva. Iako pacijenti sami mogu koristiti beziglične injektore, a i eliminirana je pojava straha od igala, korištenje

bezigličnih injektora zahtjeva obuku osoblja i pacijenata. Također, beziglični injektori nisu prikladni za intravenski način primjene lijeka (35).

RF ablacija, sonforeza i metode laserske ablacije (Slika 4d.) uglavnom se koriste u kozmetici i pokazuju prilično velike potencijale, međutim za primjenu je potrebna velika i skupa oprema te su stoga prikladne samo za kliničku primjenu. Kao alternativa, MN su privukle veliku pažnju jer mogu transportirati lijekove na minimalno invazivne način putem transdermalnog puta i relativno su jednostavne i jeftine (18).

MN su lakše za korištenje i manje su bolne od energetskih modaliteta velike snage te omogućuju kontrolirano i produljeno oslobađanje djelatnih tvari ovisno o potrebama pacijenata. Mogu se podijeliti u nekoliko tipova u skladu s njihovim oblikom i upotrebom, uključujući čvrste, šuplje, površinski obložene, razgradljive i pametne MN sustave.

Čvrste MN izrađuju se od tvrdih materijala kao što su silicij i metali. Tvrdća materijala omogućava čvrstim MN da lako stvaraju mikropore tj. mikroprolaze kroz koji se prenose djelatne tvari. Stvaranje mikropora je kratkotrajan i reverzibilan proces što znači da se brzo nakon stvaranja mikropora mogu primijeniti flasteri ili djelatne tvari kao npr. diklofenak kako bi produžilo trajanje formiranih mikropora. Tekući ili polučvrsti farmaceutski oblici djelatnih tvari mogu se obložiti na površinu čvrstih mikroigala (obložene MN) ili se mogu uklopiti u mikroigle koje se razgrađuju nakon primjene (razgradljive MN). Budući da kod obloženih MN sloj premaza smanjuje fizičku snagu i oštrinu igala, opterećenje lijeka na površini igle ograničeno je na malu količinu. Prema tome, obložene MN se koriste u slučajevima kada se ne trebaju primjenjivati velike doze lijekova. Šuplje MN imaju šuplju jezgru unutar igala kroz koju teče otopina lijeka. Otopina lijeka može se pasivno isporučiti difuzijom ili aktivno protjecanjem kroz otvor igle tj. primjenom pritiska. Prednost primjene takvih MN je kontrola doziranja lijeka u svrhu zadovoljavanja specifičnih potreba pacijenata. Međutim, nedostatak takvog pristupa je da je potrebna dodatna oprema kao što su npr. spremnik za lijek i pumpa koji pomažu primjenu lijeka. Razgradljive MN formulirane su od biokompatibilnih polimera i polimera topljivih u vodi. Djelatne tvari se ugrađuju u polimerni matriks i oslobađaju pri razgradnji ili otapanju matriksa u biološkoj sredini. Odabirom odgovarajućih polimera moguće

je kontrolirati oslobađanje djelatne tvari od nekoliko sekundi do nekoliko mjeseci. Međutim, postoje i izazovi povezani s takvom tehnikom. Na primjer, upotreba ultraljubičastog (UV) zračenja ili povišene temperature za polimerizaciju polimera u postupku izrade mogu izazvati denaturaciju djelatne tvari koja je uklopljena u polimerni prekursor. Doza djelatne tvari koja se može uklopiti u polimerni matriks također je ograničena jer visoki udjel djelatne tvari u smjesi prekursora smanjuje mehaničku čvrstoću konačnih mikroigli (18).

1.2.4. Četvrta generacija TDDS

Dosadašnji razvoj sustava za transdermalnu primjenu lijeka imao je za cilj osigurati što bolju učinkovitost isporuke, ali znatan pomak se događa razvojem TDDS koji omogućuju personaliziranu terapiju. Personalizirana se terapija razlikuje od uobičajenih medicinskih postupaka u smislu optimiranja liječenja na temelju patofiziološkog stanja pojedinog pacijenta. Provođenje personalizirane terapije zahtjeva sustavnu kontrolu primijenjene doze temeljem preciznog praćenja fizioloških parametara pacijenta u stvarnom vremenu kako bi se utvrdilo napredovanje bolesti i učinkovitost lijeka. Kao odgovor na sve veću potrebu za personaliziranom terapijom, razvoj četvrte generacije TDDS fokusiran je na napredne sustave transdermalne primjene koji uključuju korištenje biokemijske elektronike.

Brzi napredak u razvoju najsuvremenijih uređaja u obliku prilagođenom za nošenje olakšao je besprijekornu integraciju bioelektronskih uređaja u transdermalne flastere s raznim funkcionalnostima. Sinergijska izvedba nosivih uređaja i transdermalnih flastera za isporuku lijeka prema povratnoj informaciji pruža novu platformu za personaliziranu terapiju. Princip rada takvih sinergijskih sustava za transdermalnu dostavu lijeka je da aktivatori prenose energiju na nosač s lijekom na kontrolirani način, a senzori naknadno prikupljaju informacije o terapijskoj učinkovitosti lijeka mjereći fiziološke (npr. krvni tlak, temperatura), elektrofiziološke (npr. elektrokardiogram, elektroencefalogram) i biokemijske (npr. pH, glukoza u krvi i razina kisika) signale. Da bi se povećala učinkovitost ovakvog transdermalnog sustava za dostavu lijeka, ključno je osigurati kontakt između nosivog

uređaja i kože koji proizlazi iz rastezljivosti i fleksibilnosti uređaja. Mekoća i deformabilnost sustava smanjuje lokalno odvajanje i mikroskopski prostor između uređaja i kože koji se pojavljuje zbog morfologije kože i tjelesnih pokreta. Integracija uređaja na kožu također potiče precizno mjerenje bioloških signala s minimalnim šumom uzrokovanim pokretom, povećavajući točnost senzora koji prate fiziološke, elektrofiziološke i biokemijske signale iz kože. Na temelju prikupljenih podataka, integrirani aktivator kontrolira brzinu difuzije lijeka. Ovaj proces je također poboljšan kontaktom jer stabilno sučelje između flastera i kože osigurava homogeni i učinkovit prijenos energije te ujednačeni profil oslobađanja djelatne tvari na ukupnoj površini flastera.

TDDS četvrte generacije možemo podijeliti na sljedeće: (i) transdermalna primjena lijeka temeljena na praćenju fizioloških / elektrofizioloških signala, (ii) transdermalna primjena lijeka temeljena na praćenju biokemijskih signala i (iii) sustav pametnih mikroigala.

Kako bi se dijagnosticiralo zdravstveno stanje pojedinca, prvo se prikuplja niz fizikalnih i električnih signala. Zbirka preciznih zdravstvenih informacija s visokom prostorno-vremenskom rezolucijom važna je u kontroli dostave lijeka. Budući da je površina kože mekana, zakrivljena i pomična, senzori zahtijevaju fizičke karakteristike slične karakteristikama kože kako bi se dobile što kvalitetnije informacije bez artefakata ili pozadinskih šumova s površine kože. Fleksibilni, rastezljivi te meki i nosivi biosenzori prilagođeni konusu kože olakšavaju kontakt s kožom i omogućuju precizno praćenje fizioloških biomarkera pojedinca u stvarnom vremenu, što je od presudnog značaja za pouzdanost mjerenja tjelesnih signala. Točna dijagnoza temeljena na konformnom kontaktu također povećava učinkovitost kontroliranog oslobađanja djelatne tvari kao odgovor na fiziološke povratne informacije. Prikupljanje elektrofizioloških signala kao što su elektromiogram, elektroencefalogram i elektrokardiogram koji odražavaju stanje mišića, mozga i srca u stvarnom vremenu također su sastavni dio zdravstvenog nadzora koji omogućuju kontinuirano prikupljanje relevantnih informacija. Takvi signali se također mogu prikupljati s kože neinvazivno koristeći nosive elektrode i integrirano pojačalo. Na temelju

izmjerenih električnih signala, integrirani aktivatori lijekova mogu učinkovito isporučiti lijek kroz kožu.

Biokemijska analiza bioloških tekućina može pružiti dovoljno informacija o zdravstvenom stanju pojedinca i progresiji bolesti. Biološka tekućina koju često koriste za analizu TDDS četvrte generacije je znoj jer sadrži mnogo raznih metaboličkih podataka kao što je npr. razina glukoze. Razina glukoze u znoju u izravnoj je korelaciji s razinom glukoze u krvi pa je ova korelacija i potaknula razvoj sustava za kontrolu dijabetesa, tj. razvoj minimalno invazivne regulacije glukoze u krvi određivanjem glukoze iz znoja preko kože i primjenom lijeka putem MN. Takav minimalno invazivni sustav za praćenje glukoze pokreće se znojenjem nakon primjene flastera. Kako bi se što preciznije odredila razina glukoze u znoju, podaci prikupljeni senzorom za glukozu se korigiraju integriranim senzorima za pH, temperaturu i vlagu. Kada dođe do hiperglikemije, MN se pokreću signalom senzora za transdermalnu primjenu lijeka.

Konvencionalno praćenje šećera u krvi uzrokuje bol i stres tijekom povlačenja krvi i injektiranja lijeka kod pacijenata sa šećernom bolesti pa opisani TDDS četvrte generacije za praćenje glukoze s povratnom terapijom omogućuje poboljšanje kvalitete života pacijenata.

Međutim, u slučaju konvencionalnih MN teško je kontrolirati trajanje i oslobođenu dozu djelatne tvari jer je difuzijska terapija ireverzibilna nakon što se MN umetnu u kožu, a i podaci za određivanje brzine isporuke lijeka nisu dostupni.

Pametne MN predstavljaju vrh napredne transdermalne primjene lijeka jer inkorporiraju sve ranije spomenute elemente, senzore, aktivatore i formulaciju lijeka, u kompletu petlju koja pruža informaciju za personaliziranu terapiju. Senzori prate fiziološke uvjete i aktiviraju lijekove, a aktivatori manipuliraju profilom oslobađanja i dozom lijeka. Bez daljnje intervencije, automatizirani flasteri s MN i dalje reagiraju na napredovanje bolesti sve dok se simptomi ne ublaže. Pametne MN pružaju pacijentima prilagođenu primjenu lijeka i na temelju povratne informacije što nije postignuto prethodnim MN sustavima. MN koji reagiraju na vanjske podražaje (npr., toplina, laser) omogućuju aktivaciju on / off za davanje lijeka, što mogu vrlo lako kontrolirati i sami pacijenti.

Pametne nanočestice koje reagiraju na biokemijske podražaje (npr. promjena pH, koncentracija glukoze) također se mogu uklopiti u MN. MN olakšavaju ulazak nanočestica u krvotok, a isporučene nanočestice reagiraju na fiziološko stanje bolesnika i oslobađaju lijekove u skladu s dobivenim signalom (18). Takav koncept dokazan je s nanočesticama koje sadrže glukoza oksidazu i inzulin koji se oslobađa kao odgovor na visoku koncentraciju glukoze u krvi (36).

Prethodne generacije sustava za transdermalnu primjenu lijeka bile su usredotočene na maksimiziranje učinkovitosti isporuke. Nova tehnološka platforma nadopunjuje nedostatke prethodnih transdermalnih sustava i daje dobre sinergijske rezultate kada se zajedno kombiniraju najnapredniji transdermalni flasteri i uređaji. Premda transdermalna primjena lijekova sustavim četvrte generacije i dalje zahtijeva mnogo razvoja, očekuje se da će takva strategija poboljšati kvalitetu i učinkovitost terapije (18).

2. CILJ ISTRAŽIVANJA

Transdermalni put primjene lijeka osigurava mnoge prednosti u odnosu na oralne i parenteralne puteve primjene kao što su neinvazivnost primjene, zaobilazanje prvog prolaska kroz jetru, izbjegavanje razgradnje lijeka u probavnom sustavu kao i iritacije probavnog sustava, poboljšanu bioraspoloživost lijeka, primjena niže koncentracije lijeka, smanjena učestalost doziranja i smanjena pojavnost i učestalost nuspojava. Glavno ograničenje transdermalne primjene lijeka je čvrsta nepropusna barijera rožnatog sloja. U poslijednjih nekoliko desetljeća intenzivno su razvijani sustavi za transdermalnu primjenu lijeka kako bi se prevladala barijera rožnatog sloja, osiguralo kontrolirano oslobađanje lijeka te poboljšala djelotvornost i selektivnost postojećih farmaceutskih oblika za transdermalnu primjenu.

Cilj ovog specijalističkog rada je opisati značajke i posebnosti mikroigala kao suvremenog načina transdermalne primjene lijekova. Mikroigle su privukle veliku pažnju jer mogu transportirati tekuće ili polučvrste farmaceutske oblike lijekova na minimalno invazivan način te u značajnoj mjeri poboljšati ishod liječenja u odnosu na konvencionalne načine primjene lijeka. Vrhunac napredne transdermalne primjene lijeka predstavljaju pametne mikroigle koje sadrže uklopljene senzore, aktivatore i formulaciju lijeka u kompletan sustav koji pruža informaciju za personaliziranu terapiju.

Detaljan pregled najznačajnijih prednosti i nedostataka transdermalne primjene lijekova upotrebom mikroigala kao suvremenog transdermalnog sustava pridonijeti će ciljanom razvoju tekućih i polučvrstih farmaceutskih oblika lijekova namijenjenih transdermalnoj primjeni korištenjem mikroigala.

3. MATERIJAL I METODE - SUSTAVNI PREGLED SAZNANJA O TEMI

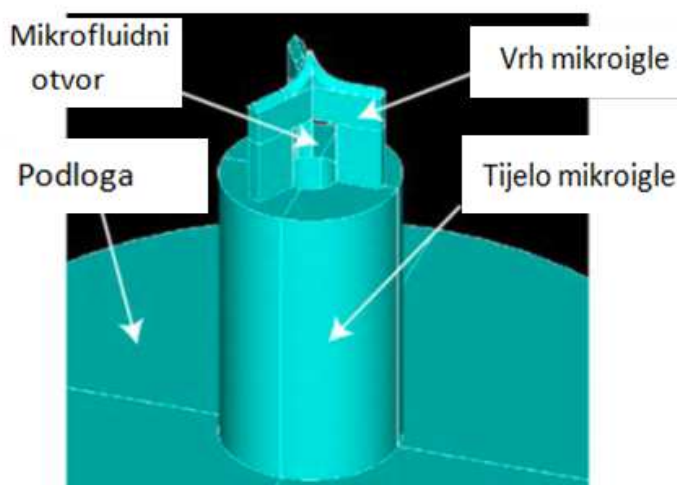
Istraživanja u okviru ovog specijalističkog rada su teorijskog karaktera i uključuju detaljan pregled dostupnih znanstvenih publikacija iz područja transdermalne primjene lijekova, mogućim načinima optimiranja transdermalne primjene lijeka korištenjem sustava za transdermalnu primjenu te specifično primjenu mikroigala kao suvremenog transdermalnog sustava za poboljšanje ishoda liječenja u odnosu na oralne i parenteralne načine primjene lijeka.

Prikaz značajki i posebnosti primjene mikroigala u transdermalnoj primjeni lijekova dobiven je pregledom dostupnih znanstvenih publikacija prema temi istraživanja, predmetu istraživanja, autorima i časopisu. Odabrane su specijalizirane publikacije relevantne za problematiku ovog specijalističkog rada koje su proučene na analitički i kritičan način te su izdvojena najvažnija dostignuća, rasprave i zaključci. Također, na temelju proučavanih znanstvenih publikacija izvedena su vlastita razmatranja koja su sastavni dio rasprave ovog specijalističkog rada.

U pretraživanju su korištene dostupne bibliografske baze podataka i servisi: PubMed, ScienceDirect i ResearchGate, te baze podataka dostupne na web stranicama FDA i EMA-e uz primjenu ključnih riječi poput: *Transdermal Drug Delivery*, *Transdermal Drug Delivery Systems*, *Transdermal Drug Delivery Enhancers*, *Microneedles*.

3.1. Mikroigle za transdermalnu primjenu

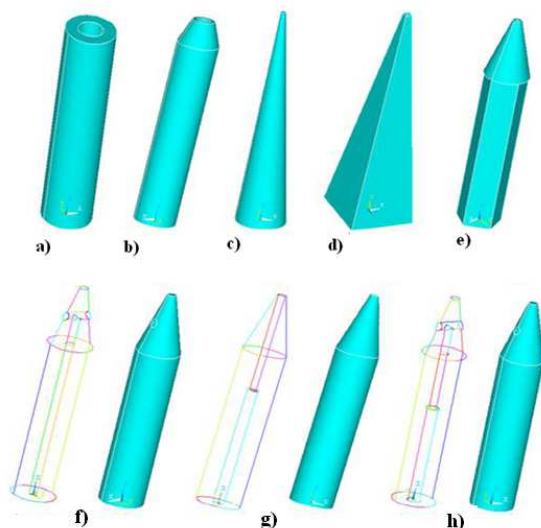
Mikroigle se oblikuju kao čvrste ili šuplje cjevčice duljine od 50 do 900 μm i mikrometarskog promjera uglavnom manjim od 300 μm , a mogu biti poslagane u nizove od 2000 MN/cm² (37, 38). Osnovne dijelove mikroigle čine podloga, tanko tijelo sa suženim oštrim vrhom te mikrofluidnim otvorom smještenim bočno na vrhu tijela MN. Osnovna struktura MN prikazana je shematski na Slici 5 (39).



Slika 5. Osnovna struktura mikroigle (prilagođeno prema literaturnom navodu 39).

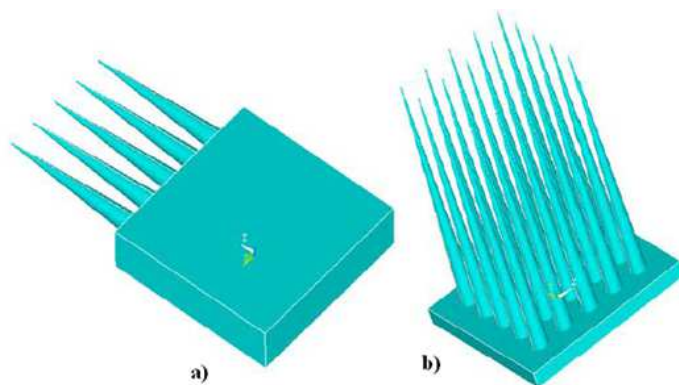
MN su dovoljno duge da mogu prodrijeti do dermisa, ali su dovoljno kratke i uske da izbjegnu stimulaciju dermalnih živaca ili probijanje dermalnih krvnih žila. Kako bi se zadovoljili različiti terapijski zahtjevi i optimirao obim isporuke lijeka, MN se izrađuju u različitim oblicima te različite veličine i gustoće po jedinici površine potporne ili adhezivne membrane (37, 38).

Predloženi i proizvedeni su cilindrični, stožasti, piramidalni, kvadratni, peterokutni, šesterokutni, osmerokutni i mnogi drugi oblici MN. Također, prijavljene su i MN s različitim oblicima vrhova kao što su npr. vulkanski, cilindrični, stožasti, zašiljeni itd. Shematski prikaz MN različitih oblika i vrhova prikazan je na Slici 6.



Slika 6. Shematski prikaz različitih oblika mikroigli: a) cilindrični; b) suženi/zašiljeni vrh; c) stožasti; d) kvadratni; e) peterokutna baza sa stožastim vrhom; f) pojedinačni lumen s bočnim otvorima; g) dvostruki lumen; h) dvostruki lumen s bočnim otvorima (prilagođeno prema literaturnom navodu 40).

Na temelju postupka izrade, MN se mogu klasificirati u dvije kategorije; MN u ravnini (engl. *in-plane*) i MN izvan ravnine (engl. *out-of-plane*) (Slika 7). Kod *in-plane* dizajna MN su postavljene paralelno s podlogom MN, a kod *out-of-plane* dizajna MN su postavljene okomito na podlogu MN. Glavni nedostatak *in-plane* dizajna je ograničena gustoća. Kako bi se prevladalo ovo ograničenje, razvijen je *out-of-plane* dizajn (37, 40).

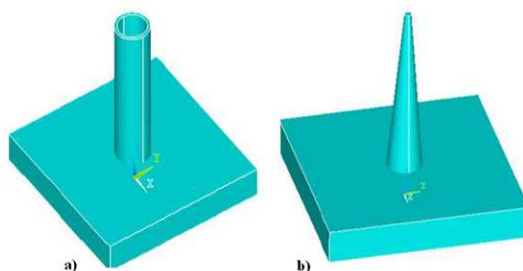


Slika 7. Shematski prikaz razvrstavanja mikroigli: a) *in-plane* dizajn; b) *out-of-plane* dizajn (prilagođeno prema literaturnom navodu 40).

Kod *in-plane* dizajna duljina MN može se lako i precizno kontrolirati tijekom procesa izrade i to je glavna prednost ovog dizajna. Ograničenje *in-plane* dizajna je vrlo teška izrada MN s 2D geometrijom. Kod *out-of-plane* dizajna MN strše iz podloge i lakše ih je izraditi u 1D ili 2D geometriji. Međutim, izrada *out-of-plane* dizajna s dugačkim MN i s visokim odnosom širine i visine MN (engl. *aspect ratio*) je izazovna (40).

3.2. Vrste mikroigli

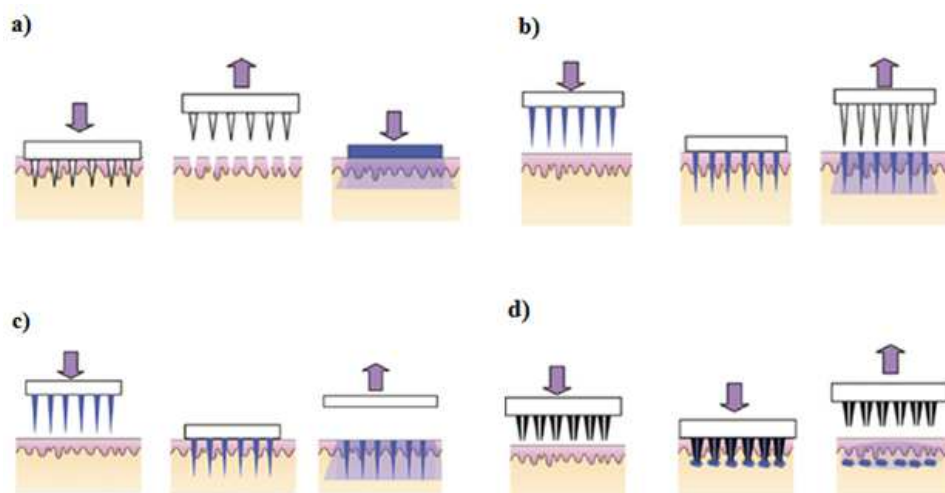
Sve MN se mogu podijeliti na čvrste MN, koje stvaraju mikropore u SC, i šuplje MN, koje preko uske kapilare mogu direktno ubrizgavati lijek u/kroz kožu (Slika 8) (40).



Slika 8. Shematski prikaz vrsta mikroigli: a) šuplja MN; b) čvrsta MN (prilagođeno prema literaturnom navodu 40).

3.2.1. Čvrste mikroigle

Čvrste MN se apliciraju na kožu i zatim uklanjaju stvarajući reverzibilne mikropore u SC kroz koje je omogućen prolazak molekula. Tekući i polučvrsti farmaceutski oblici mogu se jednostavno primijeniti prije ili nakon uporabe čvrstih MN, ali mogu biti i naneseni u obliku obloge na površini čvrstih MN ili uklopljeni u MN koje se razgrađuju nakon primjene na koži. Postoje tri glavna mehanizma kojim se mogu koristiti čvrste MN za isporuku lijeka u kožu, a to su (i) „*poke with patch*“, (ii) „*poke and release*“ i (iii) „*coat and poke*“ pristupi (Slika 9.) (37, 38).



Slika 9. Mehhanizmi isporuke lijeka primjenom mikroigli različitog dizajna: a) „*poke with patch*“ pristup korištenjem čvrstih mikroigli; b) „*coat and poke*“ pristup korištenjem obloženih čvrstih mikroigli; c) „*poke and release*“ pristup korištenjem razgradljivih mikroigli; d) „*poke and flow*“ pristup korištenjem šupljih mikroigli (prilagođeno prema literaturnom navodu 38).

3.2.1.1 „*Poke with patch*“ pristup

U početnim fazama razvoja i primjena prvih MN kreiranih za transdermalnu isporuku lijeka zasnivala su se na „*poke with patch*“ pristupu (37). Ovaj pristup uključuje primjenu čvrstih MN na kožu, njihovo uklanjanje i nakon toga primjenu na kožu neke konvencionalne formulacije u obliku vanjskog spremnika (transdermalni flaster, otopina, gel ili krema). Prolazak djelatne tvari kroz stvorene mikropore odvija se pasivnom difuzijom.

Henry i suradnici objavili su prvo istraživanje koje je provedeno upotrebom čvrstih silicijskih MN za isporuku kalceina primjenom „*poke and patch*“ pristupa. Od tada je ovaj pristup široko korišten za isporuku različitih molekula, uključujući goveđi serumski albumin (BSA), inzulin, nesteroidne protuupalne lijekove, oligonukleotide, itd (37, 41, 42).

Provedene studije pokazale su da penetracija bazirana na čvrstim MN povećava propusnost za različite spojeve do četiri puta. Ipak, pasivni transport lijeka kroz mikropore ne vodi uvijek do visoke bioraspoloživosti lijekova i zato je kod primjene ovog pristupa vrlo važno da mikropore ostanu otvorene dovoljno dugo, tj. tijekom cijelog perioda primjene lijeka (43).

Glavno ograničenje kod ovog pristupa je primjena lijeka u dva koraka, a to može dovesti do praktičnih problema pri aplikaciji kod pacijenata (37). Ukoliko se dogodi da igla pukne i zaostane u koži, pojava iritacije je neizbježna. Troškovi proizvodnje su visoki, a problemi se javljaju i kod zbrinjavanja otpada (44).

Materijali koji se koriste za proizvodnju čvrstih MN su uglavnom silikon, metali i polimeri (37). Potvrđeno je da korištenjem MN „*poke with patch*“ pristupom u kombinaciji s iontoforezom dovodi do povećanja unosa nabijenih lijekova do nekoliko puta u odnosu na primjenu lijeka samo iontoforezom ili MN. Nedostatak kod kombinacije iontoforeze i MN je u tome što iontoforeza može uzrokovati iritaciju kože.

Varijacija „*poke with patch*“ pristupa je „*scrape and patch*“ pristup, pri čemu se prvo MN struže po koži kako bi nastale mikroogrebotine na koje se potom nanosi flaster s otopinom lijeka (43).

3.2.1.2 „*Poke and release*“ pristup

Drugi pristup za transdermalnu dostavu lijekova čvrstim MN je „*poke and release*“ pristup. Čvrste MN koje su kreirane za dostavu transdermalnu isporuku lijeka zasnovanu na „*poke and release*“ pristupu nazivaju se i razgradljive MN. „*Poke and release*“ pristup podrazumijeva primjenu čvrstih MN koje su napunjene djelatnom tvari uklopljenom u razgradljive polimere koji služe kao depoi (43). Nakon umetanja MN njihovi vrhovi se otapaju ili razgrađuju nakon kontakta s kožnom međuprostornom tekućinom i tada se oslobađa uklopljena djelatna tvar. Kinetika oslobađanja djelatne tvari ovisi o brzini otapanja konstitutivnih polimera što znači da se kontrolirano unošenje lijeka može postići podešavanjem polimernog sastava ili modifikacijom postupka proizvodnje MN (37).

Razgradljive MN omogućuju istodobno stvaranje mikropora u SC i oslobađanje djelatne tvari bez primjene flastera ili mikropumpe. Također, kod ovih MN nema zaostajanja opasnog otpada (45). Razgradljive MN imaju i mnoge druge prednosti, a glavna prednost je niska cijena polimernih materijala i njihova relativno laka proizvodnja pomoću kalupa na sobnoj

temperaturi, što bi trebalo omogućiti neposrednu industrijsku proizvodnju. Razni materijali, uključujući polivinil alkohol (PVA), polivinilpirolidona (PVP), dekstran, karboksimetil celuloza (CMC), kondroitin sulfat i šećer su korišteni za izradu ove vrste MN.

Važno je da se uporabom materijala topivih u vodi eliminira potencijalni rizik od nakupljanja biološki opasnog otpada u koži jer i po samoj definiciji ove MN su razgradljive, tj. samorazgradljive. Glavno ograničenje ove vrste TDDS je taloženje polimera u koži, što čini ovaj sustavi nepoželjnim, ukoliko će se takav TDDS koristiti kontinuirano.

Također, biorazgradljive MN također mogu biti uključene u kategoriju razgradljivih MN. Biorazgradljive MN mogu se koristiti za isporuku različitih tipova terapeutika, od malih molekula do makromolekula ili nanočestica.

Proizvode se od biorazgradljivih polimera, uključujući PLA, kitosan ili PLGA, za stvaranje matrixa. Nakon umetanja u kožu oni degradiraju ispuštajući djelatnu tvar, ali se ne otapaju u koži. U skladu s tim, otpuštanje bi moglo biti održano mjesecima odabirom odgovarajućeg polimera. Budući da biološkom razgradnjom obično nastaju male molekule reakcijom hidrolize, polimer se ne pohranjuje u koži na neodređeno vrijeme. Biorazgradljive MN obično zahtijevaju proizvodnju pri visokim temperaturama što može oštetiti biomaterijal koji nose (37).

Dodatni nedostatak je taj što ostatna organska otapala i sam biorazgradljivi materijal mogu uzrokovati iritaciju kože. Za razliku od „*poke and patch*“ mehanizma, „*poke and release*“ mehanizam zahtijeva ostanak MN u koži nakon primjene sve dok se djelatna tvar ne otpusti (43).

3.2.1.3 „*Coat and poke*“ pristup

Treći pristup za transdermalnu dostavu lijekova čvrstim MN predstavlja „*coat and poke*“ pristup. Ovaj pristup podrazumijeva primjenu čvrstih MN koje su obložene prikladnom formulacijom za oblaganja koja se otapa u koži kao i kod „*poke and release*“ pristupa. Čvrste MN koje su kreirane za transdermalnu isporuku lijeka zasnovanu na „*coat and poke*“ pristupu

nazivaju se i obložene MN. Upotrebom obloženih MN željena doza lijeka je dostavljena u tkivo brzo nakon umetanja MN u kožu (15, 37).

Iako ova vrsta MN omogućuje jednostavan proces primjene u jednom koraku, količina lijeka koja može biti obložena na površini MN je ograničena na količinu kojom se može obložiti vrh i tijelo MN. Količina lijeka uglavnom je manja od 1 mg jer gusta obloga vodi do vrlo niske efikasnosti dostave lijeka, uglavnom zbog smanjenja oštine MN. Zbog toga su obložene MN za TDD primjenjive samo za isporuku makromolekula kao što su cjepiva, proteini, peptidi i DNA (37, 15).

Također, troškovi proizvodnje su visoki i predstavljaju dodatno ograničenje (44).

Varijacija „*coat and poke*“ pristupa je „*dip and scrape*“ pristup pri čemu se čvrste MN prvo oblažu i nakon toga stružu po koži. Ovaj pristup dovodi do isporuke lijekova i cjepiva u formirane mikroabrazije, a prednost je što se mogu koristiti tupi vrhovi čvrstih MN. Međutim, struganje izaziva više oštećenja epidermisa naspram „*cote and poke*“ pristupa i može izazvati veću iritaciju kože. Osim toga, ova metoda vjerojatno pati od varijabilne, manje kontrolirane isporuke lijeka u kožu (43).

3.2.2. Šuplje mikroigle

Šuplje MN su poput redovitih potkožnih igala samo su kraće duljine (46). Korištenjem šupljih MN dostava određenog lijeka u kožu omogućena je kroz cilindričnu šupljinu MN različitim metodama: difuzijom ili pod tlačnim/električnim pogonom. Ovakav način isporuke lijekova naziva se „*poke and flow*“ pristup i ima sposobnost isporuke veće količine djelatne tvari u odnosu na čvrste, obložene i razgradljive MN (37).

Prednost „*poke and flow*“ pristupa je što se korištenje postojeće injekcijske formulacije može pojednostaviti korištenjem šupljih MN zbog čega su i troškovi razvoja takvih MN relativno niži (42). Međutim, šuplje MN zahtijevaju vrlo preciznu proizvodnu tehnologiju visoke cijene koja sprečava proizvodnju velikih serija MN koje ujedno nisu vrlo čvrste. Ukoliko dođe do puknuća MN može doći do značajnog istjecanja ili nekontroliranog oslobađanja djelatne tvari.

(44). Šuplje MN imaju potencijal za začepljenjem otvora igle tkivom i za pojavom otpornosti protoka zbog gustog kožnog (dermalnog) tkiva komprimiranog oko vrhova MN tijekom primjene. Prvo ograničenje može se prevladati pomoću alternativnog dizajna lociranjem cilindrične šupljine sa strane vrha MN. Djelomično povlačenje igle nakon umetanja može također povećati infuziju tekućine zbog opuštanja komprimiranog tkivu oko vrha. Međutim, korištenje tekućih formulacija lijekova zahtijeva prikladan spremnik, a tekuće formulacije koje su nestabilne posebno pri povišenim temperaturama (37). Pomoću šupljih MN lijek se može isporučiti izravno u epidermu ili dermis izbjegavajući SC. To je naročito korisno za isporuku spojeva visoke molekulske mase kao što su proteini, oligonukleotidi i cjepiva (46).

Šuplje MN mogu biti izrađene od različitih materijala, uključujući silicij i metal, staklo, polimere i keramiku (37).

3.2.3. Hidrogel formirajuće mikroigle

Hidrogel formirajuće MN su prema definiciji hidrogela jedna vrsta polimernih ili polisaharidnih MN (44). Hidrogel formirajuće MN su relativno novi tip i sastoje se od umreženih polimernih MN bez lijeka. MN su isturene od čvrste podloge na koju je pričvršćen flaster sa spremnikom lijeka. Nakon primjene, umetnuti vrhovi MN brzo uvlače međustaničnu tekućinu iz tkiva, čime se inducira difuzija lijeka iz flastera kroz izbubrene MN (37). MN prvo djeluju kao alat za prodiranje kroz SC, a nakon naticanja postaju membrana koja kontrolira brzinu difuzije. U usporedbi s klasičnim razgradljivim polimernim MN prednost ovakvih sustava je što doza lijeka i biomolekula nije ograničena na dozu koja se može uklopiti u same MN (46).

Dokazano je da se isporuka lijeka može kontrolirati prilagodbom gustoće poprečnih veza hidrogelnog matriksa. To podrazumijeva da se isporuka lijeka može prilagoditi tako da zadovolji zahtjeve različitih lijekova s različitom terapijskom širinom. Hidrogel formirajuće MN se čitave uklanjaju iz kože ne ostavljajući mjerljive polimerne ostatke iza sebe što predstavlja značajnu prednost u odnosu na razgradljive MN. Također, hidrogel formirajuće MN nakon primjene omekšavaju čime je onemogućena njihova ponovna primjena te se dodatno smanjuje

rizik od prijenosa infekcije. Može se pretpostaviti da bi odsutnost preostalih polimernih materijala nakon primjene ovakvih sustava mogla znatno ubrzati i komercijalizaciju ovakvih sustava jer bi se i broj regulatornih prepreka smanjio. Nadalje, ovakvi sustavi su tolerantni na proces sterilizacije čime se osigurava sterilnost uređaja ukoliko je to potrebno (8, 37).

Hidrogel formirajuće MN mogu se proizvesti u širokom rasponu veličina flastera i geometrija, lako se mogu sterilizirati, te zatvaranje mikropora je onemogućeno dok su MN primijenjene na mjestu. Iako ovakvi sustavi omogućuju isporuku visoko potentnih lijekova, malih doza lijeka i cjepiva, potrebna je primjena i lijekova za liječenje kroničnih poremećaja. Upotreba hidrogel formirajućih MN je obećavajuća, ali je potrebno usmjeriti razvoj na širenje raspona materijala koji se mogu koristiti za izradu ovih korisnih transdermalnih sustava za isporuku lijeka. Neki polimeri i polisaharidi privlače sve veću pažnju zbog svoje izvrsne biokompatibilnosti, razgradljivosti i netoksičnosti pa osim što je proizvodnja hidrogel formirajućih MN jednostavnija i ekonomičnija, moguća je proizvodnja upotrebom materijala koji postoji su biokompatibilniji i odobreni od strane regulatornih agencija (44, 46).

Također, njihova proizvodnja može se odvijati pri sobnoj temperaturi pa se takve MN mogu koristiti za isporuku spojeva osjetljivih na temperaturu kao npr. peptidi i proteini (8).

Glavne karakteristike opisanih različitih pristupa dostave lijeka mikoriglama prikazane su u Tablici 2.

Tablica 2. Glavne karakteristike različitih pristupa dostave lijeka mikoriglama (prilagođeno prema literaturnom navodu 43).

Pristup	Ograničavajući faktori za isporuku lijekova	Prednosti	Nedostaci
„poke and flow“	<ul style="list-style-type: none"> – Protok kroz otvor mikroigle – Pri primjeni većeg volumena javlja se otpor kože 	<ul style="list-style-type: none"> – Mogućnost reguliranja protoka lijeka (npr. upotrebom pumpe) – Mogućnost isporuke velikog volumena tekuće formulacije lijeka – Precizno doziranje – Nije potrebna ili je potrebna minimalna 	<ul style="list-style-type: none"> – Rizik od začepljenja mikroigli – Narušena mehanička snaga mikroigli – Povećan rizik od istjecanja kroz otvor igle – Može biti neophodna upotreba složenih medicinskih proizvoda za primjenu

reformulacija lijeka				
„poke and patch“	– Difuzija lijeka kroz mikropore ovisi o veličini i broju pora i koncentraciji lijeka u flasteru	– Tehnički jednostavna primjena – Nije potrebna upotreba pumpe, nije potrebno oblaganje – Moguće produženo oslobađanje lijeka	– Mogućnost isporuke male frakcije lijeka (pogodno samo za potentne lijekove) – Primjena u dva koraka – Doziranje nije precizno – Neophodna je reformulacija lijeka	
„poke and release“	– Kod topljivih mikroigli: Brzina oslobađanja lijeka iz formulacije – Kod poroznih mikroigli: difuzija lijeka iz pora	– Kod procesa uklapanja može doći do gubitka male količine lijeka – Nije potreban flaster ili pumpa za primjenu – Nema štetnog otpada (topljive mikroigle) – Precizno doziranje	– Mehanička jačina je smanjena (povećana je lomljivost i dolazi do oštećenja geometrije mikroigli) – Pogodna za niske doze lijekova – Neophodna reformulacija (rekonstitucija) lijeka	
„coat and poke“	– Odvajanje obloge s površine mikroigle, a u slučaju debljih obloga brzina oslobađanja lijeka iz obloge	– Mehanička jačina je zadržana i nakon oblaganja – Nije potreban flaster ili pumpa za primjenu – Precizno doziranje	– Potrebna je učinkovita metoda za oblaganje mikroigli – Pogodna za niske doze lijekova – Neophodna je reformulacija (rekonstitucija) lijeka – Oblaganjem se manjuje oštrina i sposobnost penetracije mikroigli	

3.3. Materijali za izradu mikroigli

Za proizvodnju MN koriste se različiti materijali kao što su silicij, metal, keramika, polimeri i ugljikohidrati (Tablica 3) (37, 47).

Tablica 3. Materijali za izradu mikroigli (prilagođeno prema literaturnom navodu 38).

Materijali	Sintetski polimeri		Prirodni polimeri
	Biorazgradljivi	Ne-biorazgradljivi	
Silikon	Poliaktinatna kiselina	Polivinilacetat	Termoplastični škrob
Nehrđajući čelik	Poliglikolna kiselina	Alginatna kiselina	Karboksimetilceluloza
Titanij	Kopolimer laktatne i glikolne kiseline	Gantrez AN-139 kopolimer maleinske kiseline i metil vinil etera	Amilopektin
Mezoporozni silikon	Polikarbonati Polivinilpirolidon	Carbopol 971 P-NF Polieterimid	Dekstran, Galaktoza, Kondroitin sulfat, Maltoza

3.3.1. Silicij

Silicij je često korišteni materijal u industriji mikroelektronike koja ima veliko iskustvo u obradi ovog materijala. Tijekom 1990-ih tehnologije za proizvodnju mikronskih i submikronskih struktura postale su dostupne te su izrađene prve MN za transdermalnu isporuku lijeka od silicija. Glavna prednost silicija je velika fleksibilnost u procesima koji se mogu koristiti za njegovo oblikovanje, što ujedno znači da se mikrostrukture mogu lako proizvoditi u različitim željenim oblicima i veličinama. Osim toga, silicij ima mnoga fizikalna svojstva koja ga čini atraktivnim i prilagodljivim materijalom, a postupak proizvodnje prilično je precizan. Znatna mehanička čvrstoća silicija omogućava silicijskim MN uspješnu penetraciju kroz kožu olakšavajući transdermalnu isporuku lijeka. Silicij je intenzivno korišten u proizvodnji MN s višestrukim oblicima, visinama i gustoćama. Tri glavne vrste MN koji se izrađuju korištenjem ovog materijala su: čvrste MN, šuplje MN i obložene MN (37).

Iako je silicij atraktivan kao mikroelektronički supstrat s velikim iskustvom obrade, relativno je skup zbog složenog i dugotrajnog procesa izrade u mnogo koraka te zahtijeva obradu u čistoj prostoriji (48).

Silicij je krhak materijal pa postoji zabrinutost zbog mogućnosti lomljenja silicijskih MN nakon primjene. Bilo koji slomljeni dio koji zaostane u organizmu najvjerojatnije bi se ekstravazirao unutar četiri tjedna, ali važno je napomenuti da su zabilježene pojave stvaranja granuloma u potkožnom tkivu povezane s primjenom silicijskih materijala. Biokompatibilnost silicija ispitivana je tijekom prošlih 20-ak godina u širokom broju studija. Neke od studija biokompatibilnosti pokazale su da nanokristalni silicij ne pokazuje značajnu toksičnost dok su druge studije pokazale da postoje određeni problemi biokompatibilnosti silicija pa možemo zaključiti da ne postoji dovoljno podataka o biokompatibilnosti silicija (37).

3.3.2. Metali

Metali, kao što su nehrđajući čelik i titan, u medicinskoj su upotrebi već desetljećima. Glavni metali koji se koriste u proizvodnji MN su nehrđajući čelik, titan, paladij, legure paladij-kobalta i nikal. Nehrđajući čelik je bio prvi metal koji se koristio u proizvodnji MN, ali dobra alternativa za nehrđajući čelik je titan. Za razliku od silicija, metali koji se koriste u proizvodnji MN su biokompatibilniji.

Nehrđajući čelik pokazuje relativno dobru biokompatibilnost, ali dobru alternativu predstavljaju legure titana jer su se pokazale superiornijima u smislu biokompatibilnosti zbog njihove izvrsne otpornosti na koroziju. Međutim, titan posjeduje manje čvrstih mehaničkih svojstava naspram nehrđajućeg čelika, ali je i dalje dovoljno jak za biomedicinsku primjenu.

In vitro testovima je pokazano da mutagenost legura titana nije značajna te da je upotreba relativno sigurna za ljude i životinje, ali su zabilježene alergijske reakcije kod primjene legura titana prve generacije u ljudi. Razvijene su i ispitivane druge generacije legura titana koje se smatraju relativno sigurnim za primjenu jer još uvijek ne postoje dugoročni podaci o biokompatibilnosti titanskih legura.

Paladij i platina također pokazuju dobru biokompatibilnost iako je njihova primjena u proizvodnji MN istražena u znatno manjoj mjeri. U svakom slučaju treba biti na oprezu pri korištenju nikla kao materijala za izradu MN jer je poznato je da je nikal kancerogen i da izaziva alergijske reakcije.

Pored dobre biokompatibilnosti metali posjeduju dobra mehanička svojstva i imaju veću otpornost na lom zbog velike čvrstoće te su jeftiniji i pogodniji materijal za proizvodnju u MN od silicija. Metal je posebno atraktivan materijal za izradu šupljih MN koje trebaju veliku strukturnu čvrstinu (37, 49).

Metalne MN nisu biorazgradljive što dovodi do problema i pitanja što se događa s odlomljenim MN koji zaostanu u koži. Također, postoji i zabrinutost oko mogućih imunoloških upalnih odgovora mekog tkiva oko implantata od nehrđajućeg čelika i titana. Osim za izradu šupljih MN, metali se mogu koristiti i za proizvodnju čvrstih MN. Upotreba metala kao

materijala odobrenog od strane regulatornih tijela, ubrzati će dobivanje regulatornih odobrenja u usporedbi s onima za neodobrene materijale, kao što je npr. silicij (38, 48).

3.3.3. Keramika

Glavna vrsta keramike koja se koristi za proizvodnju MN je glinica (Al_2O_3) čija glavna prednost je kemijska otpornost. Al_2O_3 molekula je jedan od najstabilnijih oksida zbog visokih energetske ionskih i kovalentnih veza između atoma aluminijske i kisika. Zbog tih jakih veza keramika ne podliježe koroziji ili nepovoljnim uvjetima okoline. Keramika pokazuje manju otpornost prema napetosti od ostalih materijala kao što su npr. metali. Osim toga, Bystrova i suradnici pokazali su da se MN od glinice mogu slomiti tijekom primjene kroz kožu. MN od glinice mogu se upotrijebiti kao čvrste MN presvučen lijekom, slijedeći "*coat and poke*" pristup. Zbog poroznosti aluminijske ove vrste keramičkih MN mogu sadržavati definiranu količinu djelatne tvari za kontrolirano oslobađanje kroz mikropore. Druge vrste biokompatibilne keramike koje se upotrebljavaju za proizvodnju MN su gips ($\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) i mineral brushit ($\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$). Ovi materijali imaju dobra mehanička svojstva i dobra svojstva za uklapanje djelatnih tvari. Tijekom posljednjih nekoliko godina za proizvodnju MN koristi se i organski keramički hibridni materijal Ormocer[®]. Ova vrsta materijala sadrži organski modificirane silikonske alkoksidi i organske monomere koji tvore trodimenzionalnu mrežu (37). Interakcije između keramičkih i polimernih komponenti daju Ormocer[®] materijale s kemijskom i termičkom stabilnošću, ali i sprečavaju odvajanje Ormocer[®] materijala u odvojene faze (50). Zanimljiva karakteristika ovog materijala je da se njegova svojstva mogu prilagoditi mijenjanjem sastava, parametrima sinteze prilagođavajući svojstva konačnog materijala (37). Biološki testovi, uključujući ispitivanje citotoksičnosti, pokazuju da su Ormocersovi materijali netoksični i biološki inertni (51).

Prednost keramičkih MN je jeftin proizvodni proces koji se potencijalno može koristiti za proizvodnje velikih serija (52). Također zbog visoke temperaturne obrade tijekom keramičke izrade nanoporoznih MN i male veličine pora (80 nm) unutrašnjost nanoporoznih MN ostaje

sterilna što bi mogla biti atraktivna značajka za njihov daljnji razvoj (53). Keramika se uglavnom koristi za proizvodnju šupljih MN (37).

3.3.4. Polimerni materijali

Utvrđeni problemi vezani uz biokompatibilnost silicija te potencijal za neprikladnu ponovnu upotrebu silicijskih i metalnih MN koje ostaju potpuno netaknute nakon uklanjanja iz kože pacijenta usmjerili su istraživanja na razvoj MN formuliranih iz vodenih polimernih gelova (54). Polimerni materijali su obećavajuće alternative prethodno opisanim materijalima za proizvodnju MN i privlače pažnju zbog svoje izvrsne biokompatibilnosti, biorazgradljivosti, niske toksičnosti, niskih troškova te dovoljno velike čvrstoće (37, 55). Također, primjenom polimernih MN moguće je kontrolirati vrijeme osobađanja lijeka, a i u slučaju eventualnog lomljenja nema opasnosti od zdravstvenih komplikacija kao u slučaju MN izrađenih od anorganskog materijala (38, 55). Općenito, polimeri imaju nižu čvrstoću od silicija, metala, keramike i stakla, ali bolju žilavost od stakla i keramike te pružaju veću sigurnost u slučaju slučajnog lomljenja tijekom primjene na/u koži (37, 38). Najčešće korišteni polimerni materijali za izradu MN su: polilaktatna kiselina (PLA), poliglikolna kiselina (PGA), kopolimer laktatne i glikolne kiseline (PLGA), polikarbonati (PC), polimetilmetakrilat (PMMA), polivinilpirolidon (PVP), polivinil alkohol (PVA), alginatna kiselina, kopolimer maleinske kiseline i metilviniletera (PVM/MA kopolimer). PC i PMMA su intenzivno korišteni u medicinske svrhe te je opće poznato da su to biokompatibilni materijali, iako PMMA nije biorazgradljiv dok PC može biti biorazgradljiv. PVA se koristi kao biomaterijal zbog svoje biokompatibilnosti, netoksičnosti, nekancerogenosti, svojstava bubrenja i bioahezivnih svojstava. PVP je također biokompatibilan polimer i ima nisku citotoksičnost zbog svoje topljivosti u vodi, a i vrlo često se koristi kao pomoćna tvar u raznim farmaceutskim formulacijama. PVP je biorazgradljiv, ali u nešto manjoj mjeri od PVA. PLA, PGA i PLGA su najčešće korišteni alifatski poliesteri za proizvodnju MN. Osim što su biokompatibilni, alifatski poliesteri su i biorazgradljivi što ih svakako čini privlačnim materijalima za proizvodnju MN.

PVM/MA kopolimer intenzivno se koristi kao pomoćna tvar u topikalnim pripravcima, a zbog svoje niske toksičnosti koristi se u razvoju sustava za davanje oralnih lijekova na bazi nanočestica. Biokompatibilnost ovih polimera nije još uvijek opsežno proučena (37).

Navedeni polimerni materijali kao i mnogi drugi polimerni materijali odobreni su od Svjetske zdravstvene organizacije (WHO) i Američke agencije za hranu i lijekove (FDA) kao materijali koji se mogu koristiti u medicini i farmaciji što će i ubrzati dobivanje odobrenja za stavljanje na tržište polimernih MN.

Polimeri se uglavnom upotrebljavaju u proizvodnji razgradljivih/biorazgradljivih MN koje stvaraju hidrogel, ali neke studije opisuju i korištenje polimera za proizvodnju čvrstih, šupljih i obloženih MN (37).

3.3.5. Ugljikohidrati

Ugljikohidrati su dobre alternative za prethodno opisane materijale koji se koriste za izradu MN jer su jeftini i sigurni za ljudsko zdravlje. Maltoza je jedan od najčešćih šećera koji se koriste za izradu MN, a i intenzivno je korišten kao pomoćna tvar u mnogim već odobrenim parenteralnim pripravcima. Iako su istraženi i drugi šećeri, njihova mehanička svojstva nisu još uvijek detaljno istražena. Glavni nedostatak ovog tipa MN je potreba za toplinskom obradom tijekom proizvodnje koja ograničava broj spojeva koji se mogu napuniti u MN. Osim toga, tijekom postupak oslobađanja, djelomično otopljeni šećer može začepiti pore koje su stvorile MN čime se ograničava isporuka djelatne tvari. Određeni proizvodi koji sadrže maltozu ili galaktozu mogu uzrokovati smetnje u praćenju glukoze u krvi. Dok se maltoza i galaktoza mogu smatrati sigurnima za proizvodnju MN, potrebno je uzeti u obzir i ovaj problem. Osim jednostavnih šećera, polisaharidi su također široko istraženi kao biomaterijali. Zbog svoje kemijske sličnosti s ljudskim ekstracelularnim komponentama matriksa tijelo ih prepoznaje i prihvaća. Polimeri na osnovi škroba, kao što je amilopektin, iako su biokompatibilni nisu očiti izbor za biomedicinske primjene jer nisu lako biorazgradljivi u ljudskom tkivu.

MN se mogu lako proizvesti lijevanjem ugljikohidratnih materijala u rastaljenom stanju u silicijske ili metalne kalupe. Lijek koji se treba isporučiti dodaje se u smjesu prije lijevanja formulacije u kalupe. Međutim za proizvodnju toplih talina potrebna je primjena visokih temperatura (160°C za galaktozu), a tako visoke temperature mogu uzrokovati gubitak djelatne tvari. Osim toga, nakon hlađenja proizvedeni materijali su izuzetno higroskopi te uzrokuju probleme s pohranom i rukovanjem. Prema tome, MN proizvedene od ugljikohidrata nisu dobro rješenje za ograničenja povezanih sa silicijskim i metalnim MN (37).

3.4. Tehnologije za izradu mikroigala

Prve MN su bile proizvedene od silicija litografijom praćenom mokrim i suhim graviranjem, dok današnje tehnologije proizvodnje koriste različite materijale kako bi se proizvele MN željenih karakteristika (56). Odabir konkretne metode izrade u velikoj mjeri ovisi o željenim svojstvima MN (57).

Proizvodnja MN započela je 1990-ih godina kada je industrija mikroelektronike osigurala alate za mikroizradu MN prikladnih za farmaceutske primjene. Osim korištenjem tehnologija koje potječu iz industrije mikroelektronike tijekom proteklih desetljeća korištene su i tehnologije iz industrije stakla (15).

Najčešće korištene tehnike u proizvodnji MN su mikrokalupljenje (engl. *mikromoulding*), lasersko rezanje, litografija te mokro i suho graviranje. Litografija kao i mokro i suho graviranje su usvojene iz tehnologija mikroelektromehaničkih sustava (engl. *microelectromechanical systems*, MEMS) koje se tradicionalno primjenjuju za proizvodnju mikroprocesora (48, 56). MEMS omogućuje izradu malih uređaja koji koriste mikrotehnologije slične onima koje se koriste za stvaranje silicijski računalnih čipova. MEMS tehnologija je korištena za konstruiranje mikroreservara, mikropropusnih, nanoporoznih membrana, nanočestica, ventila, senzora i drugih struktura korištenjem biokompatibilnih materijala prikladnih za davanje lijeka (58). Iskorištavanje MEMS tehnologija dovelo je do potencijalnih primjena i u biomedicinskim poljima, a MEMS tehnologija kako je već ranije spomenuto može

se učinkovito primijeniti i u izradi MN. MEMS tehnologije nude potencijal za industrijsku proizvodnju MN koristeći niz alata i metodologija za stvaranje malih 3D struktura u rasponu od milimetarskih do nanometeraskih dimenzija. Međutim, proizvodnja je često vrlo specijalizirana i uključuje složene višestupanjske procese. Proces izrade čvrstih i šupljih MN te kalupa za proizvodnju razgradljivih MN uglavnom se sastoji od tri osnovna koraka koji uključuju nanošenje (engl. *deposition*), kalupljenje (engl. *patterning*) i graviranje (engl. *etching*) (47, 48). Prvi korak, nanošenje, podrazumijeva formiranje tankih filmova debljine od nekoliko nanometara do oko 100 mikrometara. Drugi korak, kalupljenje, je proces prijenosa kalupa na formirani film korištenjem neke od litografskih metoda kao što su npr. fotolitografija, litografija elektronskog snopa, litografija ionskih zraka, itd. Treći korak je suho ili vlažno graviranje koje podrazumijeva korištenje jake kiseline ili kaustičnog sredstva za urezivanje ili dizajniranje na površini materijala (37, 47).

Procesi izrade polimernih MN, koje postaju sve dostupnije, uključuje tehnike koje mogu biti podjeljene u tri kategorije ovisno o načini obrade polimernog materijala. Prva tehnika je fotolitografija kod koje se polimerizacijom supstance konstruira i definira željena struktura. Druga tehnika je oblikovanje replike kod koje se polimer injektira na tvrdi ili meki glavni kalup koji je proizveden korištenjem MEMS tehnologije. Treća tehnika uključuje strojnu mikroobradu (engl. *micromachining*) polimera. Strojna obrada ili ablazija se koriste za modifikaciju ploče materijala kako bi se dobila željena struktura (56).

Predloženo je nekoliko metoda proizvodnje razgradljivih MN, a većina tih metoda bazira se na punjenju tekuće formulacije u kalup s porama koje definiraju konačnu strukturu i sastav MN. Nakon toga slijede sušenje i/ili učvršćivanje materijala. Nepotpuno punjenje kalupa dovodi do slabog stvaranja vrhova MN ili do nemogućnosti odvajanja MN iz kalupa. Za prevladavanje ovog problema najčešće se koriste postupci koji uključuju centrifugiranje, vakuumiranje kalupa s formulacijom i/ili uključivanje površinski aktivnih tvari u formulaciju. Nakon sušenja iz kalupa se izvlači čvrsti materijal koji ima oblik kalupa. Jedan od glavnih nedostataka ovih metoda je potrebna primjena većih volumena formulacije pri punjenju kalupa, što znači da se upotrebljava samo dio volumena primijenjene formulacije, a ostatak

ostaje neiskorišten. Formulacija koja zaostaje na površini kalupa može se ponovno upotrijebiti, ali takvo recikliranje nije u skladu s dobrom proizvođačkom praksom (engl. *Good Manufacturing Practice*, GMP). Iako se kao prednost razgradljivih MN navodi kontroliranje koncentracije formulacije na mjestu upotrebe, trenutne proizvodne metode rezultiraju gubitkom formulacije. Drugi nedostaci ovih tehnologija su korištenje npr. centrifugiranja i vakuumiranja koji onemogućuju uspostavljanje kontinuiranog i fleksibilnog procesa za proizvodnju komercijalnih serija. Vrdoljak i sur. stvorili su novi jednostavan proizvodni proces koji savladava spomenute nedostatke i omogućuje kontinuiranu proizvodnju. Problem gubitka formulacije riješili su na način da su šupljine u kalupu napunili vodom, zatim uklonili višak vode i na vrh šupljina stavili formulaciju. Djelatna tvar je iz formulacije difundirala u šupljine tj. u cijeli volumen MN. Uslijedilo je sušenje i primjena fleksibilne ljepljive trake na vrh kalupa kako bi se pričvrstila na baze mikroigala. Sušenjem formulacije nastaju suhe i čvrste MN koje se izravno mogu prenijeti na ljepljivi film u obliku spremnom za primjenu na koži i time je dodatno pojednostavljen proces proizvodnje jer nije potrebna primjena dodatnog nosivog sloja za učvršćivanje MN (59).

Prednosti i nedostaci proizvodnih tehnika MN prikazane su u Tablici 4.

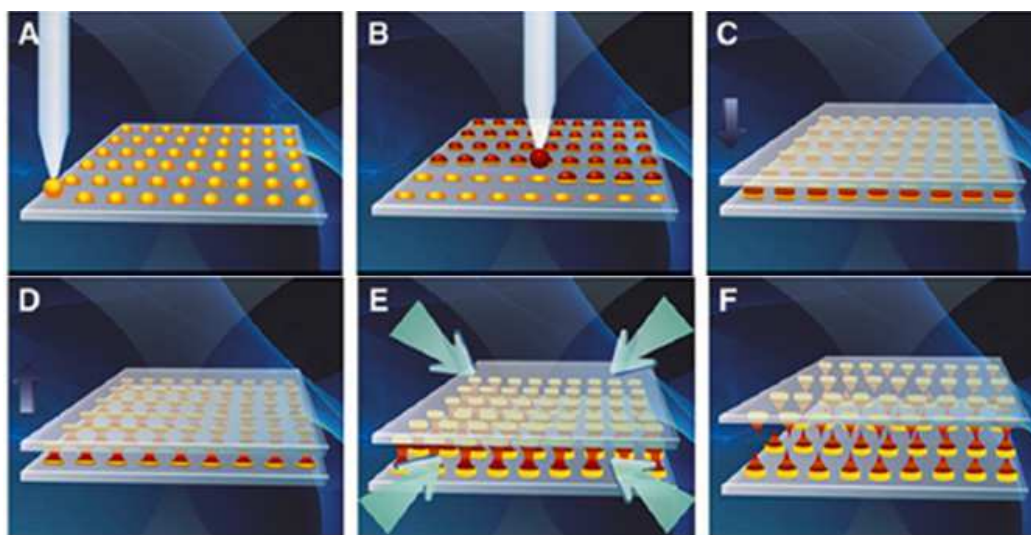
Tablica 4. Prednosti i nedostaci proizvodnih tehnika MN (prilagođeno prema literaturnom navodu 60).

Pristup	Prednosti	Nedostaci
Reaktivno ionsko graviranje	– Visoka rezolucija	– Potrebna čista soba, skupo, limitirano na silikon, ograničenja geometrije, niska propusnost
Fotolitografija	– Visoka rezolucija	– Potrebna čista soba, skupo, ograničenja geometrije
Rezanje i savijanje	– Niski troškovi, nije potrebna čista soba, čvrsti materijali	– Kontrola samo dvije dimenzije, samo čvrste mikorigle
Dvofotonska polimerizacija	– Nije potrebna čista soba, dobra kontrola geometrije, niski troškovi,	– Ograničeno na fotoosjetljive materijale
Lijevanje	– Niski troškovi, kompatibilno za razne materijale	– Geometrija kontrolirana glavnom strukturom

3.4.1. Metoda oblikovanja mikroigli iz kapljica koje se suše zrakom (engl. *Droplet-Born Air Blowing, DAB*)

DAB pripada skupini novih tehnika izrade MN koju su predložili Kim i suradnici te koja kao dodanu vrijednost ima kontrolu količine uklopljenog lijeka bez značajnih gubitaka u odnosu na konvencionalne metode kod kojih se gubici javljaju zbog korištenja topline i UV zračenja (56, 61).

Prilikom DAB tehnologije izrade, kapljica polimerne otopine koja ne sadrži djelatnu tvar i kapljica otopine koja sadrži djelatnu tvar razdjeljuju se na dvije ploče, donju i gornju ploču. Gornja ploča se pomiče prema donjoj sve dok se kapljice ne dodirnu, a zatim se ploče razdvajaju na udaljenost koja odgovara duljini MN. Polimerne otopine se suše protokom zraka stvarajući MN na svakoj ploči (Slika 10).



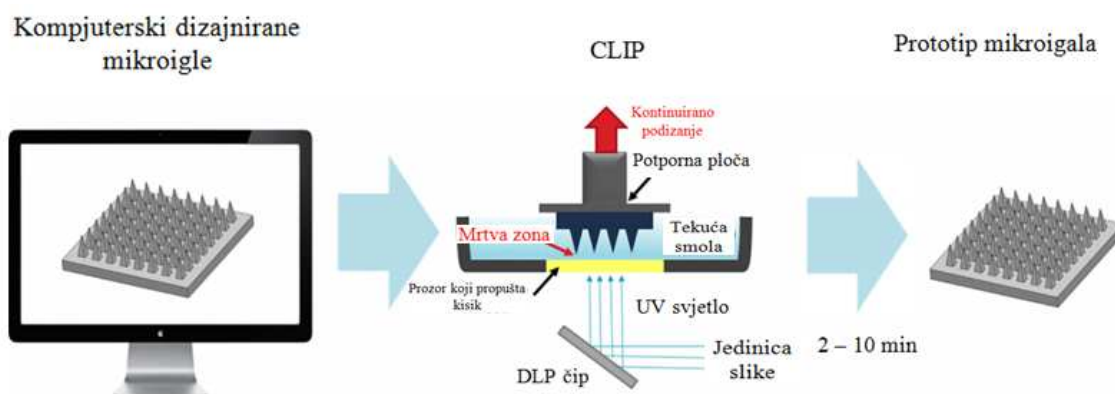
Slika 10. Shematski prikaz proizvodnje razgradljivih MN DAB metodom: A) Razdjeljivanje kapljica biopolimera na ravnu površinu za izradu osnovne strukture; B) Razdjeljivanje kapljica s djelatnom tvari na ravnu površinu za izradu osnovne strukture; C) Pomicanje gornje ploče prema donjoj sve dok se kapljice ne dodirnu; D) Kontrola duljine MN; E) Odvajanje dviju ploča stvarajući nizove razgradljivih MN na gornjoj i donjoj ploči (prilagođeno prema literaturnom navodu 56).

DAB metoda osigurava blage uvjete izrade bez primjene topline ili UV zračenja, a i izrada MN iz pojedine kapiljice omogućuje punjenje djelatne tvari u MN bez gubitaka te jednostavnu

kontrolu volumena kapljice i koncentracije djelatne tvari u kapljici. Osim primjene niske temperature (4-25 ° C), prednosti ove metode su brza izrada (≤ 10 min) te minimalni gubitak djelatne tvari i polimera. (47, 61). Osim što kratko trajanje proizvodnje smanjuje troškove proizvodnje, DAB tehnologija omogućuje i bolje održavanje aktivnosti bioloških lijekova. Također, Kim i suradnici su pokazali da je DAB tehnologija prikladna za proizvodnju razgradljivih MN prikladnih za dostavu bioloških lijekova (61).

3.4.2. Metoda proizvodnje mikroigli kontinuiranom tekućom proizvodnjom (engl. *Continuous Liquid Interface Production, CLIP*)

CLIP metoda također pripada skupini novih tehnika izrade MN kao i DAB metoda. CLIP metoda je metoda 3D ispisa koja se koristi za računalno dizajniranje i izradu prototipova oštih MN s prilagodljivim geometrijama. Ova metoda također omogućuje kalup-neovisnu, kontinuiranu proizvodnju MN gotovo svakog dizajna u periodu od 2-10 min (47, 62). Proces proizvodnje MN CLIP metodom odvija se na sljedeći način (Slika 11.). Bazen s prozorom na dnu koji propušta kisik ispuni se tekućom foto-polimernom smolom. Odbijanjem svjetla o DLP (engl. *digital light processing*) čip i prolaskom kroz prozor na dnu bazena dolazi do učvršćivanja smole u projektirani tj. određeni oblik. Nastali objekt raste dovoljno polako omogućavajući tekućoj smoli strujanje ispod objekta i kontakt s dnom bazena. Na dnu bazena smještena je i membrana koja propušta kisik te stvara „mrtvu zonu“ (engl. *dead zone*) tj. kontinuirano tekuće sučelje i sprječava pričvršćivanje smole na prozor.



Slika 11. Proces kontinuirane tekuće proizvodnje (CLIP) (prilagođeno prema literaturnom navodu 62)

Johnson i suradnici koristili su CLIP metodu za proizvodnju MN od trimetilolpropan triacrilata i biokompatibilnih materijala polietilenglikol dimetakrilata, polikaprolakton trimetakrilata i poliakrilatne kiseline. Veličina i oblik MN prilagođeni su računalno potpomognutim dizajnom. Dobiveni rezultati pokazuju da se CLIP metodom mogu brzo proizvesti MN različitih veličina, oblika, omjera, razmaka i sastava. Također, pokazali su da MN proizvedene CLIP tehnologijom posjeduju kemijska i mehanička svojstva potrebna za prodiranje kroz mišju kožu i oslobađanje fluorescentnog surogat rodamina (62).

Proizvodnja CLIP kontinuiranim procesom za razliku se od tradicionalnog sloj po sloj (engl. *layer-by-layer*) procesa traje kraće zbog eliminiranja ograničavajućeg koraka odvajanja i pravljenja, a također stvara strukturu visoke razlučivosti koja bi se oštetila tijekom tradicionalnih koraka mehaničkog razdvajanja (47).

CLIP metoda pruža veliku fleksibilnost za dizajn MN, brzo prototipiranje te gotovo nikakvu optimizaciju procesa. Predviđa se da će prednosti koje pruža CLIP tehnologija imati neposredan učinak na ubrzavanje prekliničkih istraživanja. Isto tako, ciljanje određene populacije stanica i područja moglo bi biti moguće upotrebom ove tehnike.

Terapijska primjena MN proizvedenih CLIP tehnologijom zahtjeva daljnje istrage. Konkretno, metode za uklapanje i stabiliziranje djelatnih tvari te biokompatibilnost mikroigličnih uređaja još uvijek zahtijevaju daljnji razvoj. Također, postoji potreba za procjenom sigurnosnog

profila MN proizvedenih CLIP tehnologijom radi izbjegavanja toksičnosti. Na primjer, zaostali neizreagirani akrilni monomeri i oligomeri povezani su s toksičnošću, stoga treba osigurati postupak fotopolimerizacije kojim će se potpuno iskoristiti monomeri ili potpuno uklanjanje preostalog monomera. Osim toga, potrebno je istražiti i prirodu razgradnih produkata i njihovu molekulsku masu kako bi se osigurala njihova potpuna eliminacija iz organizma (47, 62).

3.4.3. Proizvodnja mikroigli dvofotonskom polimerizacijom (engl. *Two-Photon Polymerisation, 2PP*)

Posljednjih godina razvijena je obećavajuća metoda koja se koristi za izradu MN i to je proces brze izrade prototipova dvofotonskom polimerizacijom (2PP). Pojam brze izrade prototipova je proces koji uključuje izradu trodimenzionalnih struktura iz čvrstih, tekućih ili praškastih prekursora sloj-po-sloj procesom na temelju trodimenzionalnog računalno dizajniranog modela u najkraćem mogućem vremenu. 2PP koristi ultrazvučne laserske impulse za selektivnu polimerizaciju fotoosjetljivih smola u složene mikrometarske i nanometarske strukture. Polimerizacija fotoosjetljive smole započinje procesom poznatim kao dvofotonska apsorpcija. Skoro istodobna apsorpcija dva fotona u malom volumenu u fotoosjetljivoj smoli inducira kemijske reakcije između molekule fotoinicijatora i monomera. Molekule fotoinicijatori apsorbiraju energiju fotona. Pri apsorpciji fotonske energije iznad zadanog praga, molekula fotoinicijator otpušta slobodne radikale te na taj način je omogućena polimerizacija monomera unutar fotoosjetljive smole. Nopolimerizirani materijal se naknadno opere pomoću odgovarajuće otopine (60, 63). Treba napomenuti da je dvofotonska polimerizacija kompatibilna s mnogim fotoosjetljivim smolama koje su široko dostupne i povoljne. Dodatno, dvodimenzijska polimerizacija može se provesti u uobičajenim pogonima. Na primjer, dvopotonska polimerizacija može se potencijalno postaviti u uobičajenom kliničkom okruženju za proizvodnju uređaja za davanje lijekova specifičnih za pacijente tj. koji odgovaraju određenoj pacijentovoj anatomiji i medicinskom stanju. S druge strane, mnoge konvencionalne tehnike izrade MN zahtijevaju upotrebu čistih prostorija.

Konačno, brzina obrade 2PP procesom pogodna je za visokokvalitetnu komercijalnu proizvodnju, a veliki izbor jeftinih keramika, polimera i drugih fotoosjetljivih materijala može se koristiti za proizvodnju 2PP procesom (60).

3.5. Geometrija mikroigli

Glavna svrha MN je prodiranje u/kroz kožu ili bilo koje drugo biološko tkivo bez njihovog lomljenja ili savijanja te učinkovita TDD. Elastičnost kože koja pruža otpor i dalje predstavlja glavni izazov pri primjeni MN u TDD te samo MN s odgovarajućom geometrijom i fizikalnim svojstvima mogu prodrijeti u/kroz kožu bez lomljenja ili savijanja prilikom umetanja. Optimalan dizajn MN trebao bi predstavljati nisku silu umetanja i visoku silu prijeloma. Postizanje ove značajke moguće je uz optimizaciju od nekih čimbenika kao što su materijali, metode izradbe ili dizajna. Glavni čimbenici koji utječu na silu loma i umetanja su vrsta materijala, geometrija MN i gustoća MN u nizu (37, 64). Dokazano je i da se koža može presavijati oko MN, što rezultira djelomičnim ili nepotpunim prodiranjem MN kroz kožu. To ovisi o visini MN zato je potrebno dobro razumijevanje interakcija između MN i kože kako bi se mogle dizajnirati optimalne MN za kliničku primjenu (37, 65). Proučavanjem mehaničkih svojstava kože znanstvenici su dokazali da je potrebno razmotriti i različite debljine kože na različitim mjestima, te razlike u koži zbog dobi, spola, rase i indeksa tjelesne mase kako bi se osigurala dosljedna primjena MN. Međutim, rezultati studije provedene na 324 odrasla ispitanika različite dobi, spola, etničkog podrijetla, indeksa tjelesne mase i debljine kože pokazuju da MN duljine 1,5 mm mogu učinkovito isporučiti ID cjepivo kad se umetnu okomito bez obzira na prethodno navedene razlike. Dodatno, rezultati su pokazali da se debljina kože više razlikovala između različitih mjesta na tijelu ljudi sa sličnim demografskim karakteristikama nego između ljudi različitih indeksa tjelesne mase, dobi, spola i rase. Iako ove varijacije u debljini kože izravno utječu na isporuku lijeka primjenom MN, drugi glavni faktori koje treba uzeti u obzir su način primjene lijeka te geometrija MN. Pod geometrijom

MN podrazumijevaju se slijedeći parametri: duljina, debljina, oblik, površina vrha, odnos širine i visine (engl. *Aspect ratio*), gustoće te udaljenost između MN u nizu.

Prvu studiju koja je pokazala učinak geometrije MN proveli su Davis i suradnici te su zaključili da se sila prijeloma povećava s debljinom zida MN, kutom zida i radijusom vrha MN. U drugoj studiji, Davdison i suradnici su proučavali najučinkovitiju geometriju MN za uspješan prolazak kroz kožu. Utvrđeno je da utjecaj imaju debljina MN, promjer MN, debljina obloge lijeka na MN, dubina prodiranja, razmak između MN i raspored MN u nizu. Parametri koji najznačajnije utječu na penetraciju kože su: visina igle i razmak između središnjih točaka MN u nizu. Iz dobivenih rezultata zaključili su da širi, duži i gusto nabijeni nizovi MN dovode do veće učinkovitosti propusnosti kože. Rezultati raznih provedenih studija pokazuju da duljina igala ima utjecaja na isporuku jer povećanjem duljine MN smanjuje se duljinu difuzijskog puta povećavajući unos lijeka putem dermalne mikrocirkulacije. Duljina MN ne bi trebala biti ni prekratka jer u tom slučaju može biti neučinkovita, ali ni preduga jer bi mogla uzrokovati bol zbog kontakta sa živčanim završetcima koji se nalaze u dubljim slojevima dermisa (37). U prošlosti su prijavljeni slučajevi korištenja MN duljina od 50 do 1000 μm , pa čak i dužih od 1000 μm , za stvaranje mikropora u SC (66). Idealna duljina MN je ta koja može prodrijeti preko sloja SC stvarajući puteve za transport djelatne tvari bez ometanja živčanih završetaka u dermisu i uzrokovanja boli tijekom primjene. Temeljem ove pretpostavke Gerstel i suradnici predložili su duljinu MN od 5 do 100 μm . Međutim, Henry i suradnici te Wu i suradnici dokazali su da se upotrebom MN duljine 150 μm dramatično povećava propusnost kalceina (67). Temeljem rezultata nekih drugih studija, predložena optimalna duljina MN je između 50 i 200 μm . Pastorin i sur. su dokazali da nizovi MN duljine manje od 50 μm su dovoljni za uspješno davanje ID cjepiva (37). Međutim, s obzirom na najčešće korištene MN, čini se da je 500 μm tipična duljina koja se koristi za dostavu lijeka kod ručnog umetanja MN (66).

Rezultati studije koje su proveli Gomaa i suradnici pokazuju da je umetanje MN duljine 600 μm uzrokuje veću pertubaciju kože od umetanja MN dugih 400 μm . Takva korelacija između duljine MN i stvaranja pora već je potvrđena i od drugih znanstvenika. Ipak iznenađujući su rezultati koji pokazuju da MN duljine 1000 μm uzrokuju manje pertubacije od MN duljine 600

µm. Pretpostavlja se da objašnjenje tog učinka leži u visoko elastičnim svojstvima kože. Pritišćući MN u kožu, koža će inicijalno uvući i deformirati. Tek što je postignuta minimalna snaga umetanja, vrh zapravo probija SC (68). Međutim, postoje i primjeri duljih MN koje se koriste za uspješnu TDD kao npr. BD SoluviaTM čija MN je duljine 1.5 mm i koristi se za uspješno intradermalno cijepljenje protiv gripe (66).

Geometrija vrha MN ima veliki učinak na sile potrebne za umetanje i lom. Davis i suradnici dokazali su da se sila umetanja može pokazati neovisnom o debljini stijenke; tankoslojne šuplje MN i čvrste MN s istim vanjskim vršnim radijusima zahtijevaju istu silu umetanja. Također, pokazali su da se sila koja je potrebna za uspješnu penetraciju kroz kožu linearno povećava s površinom vrha MN, a sila prijeloma raste s povećanjem debljine stijenke i smanjuje se s povećanim zidnim kutom, ali neovisno o radijusu vrha. Park i suradnici ispitivali su učinak površine vrha MN na sposobnost prodiranja u SC te su također potvrdili da primjena MN s manjom površinom vrha zahtijeva nižu silu prodiranja (69, 70).

Kochhar i suradnici dokazali su da kod polimernih MN smanjenje promjera vrha uzrokuje slabljenje i lagana napuknuća osovina MN što potencijalni može utjecati na njihovo umetanje dok geometrija kod MN izrađenih od tvrdih materijala poput silicija i metala nema značajan utjecaj. Polimerne MN zahtijevaju pažljivu kalibraciju geometrijskih svojstava kako bi se poboljšala njihova učinkovitost prodiranja (64). Dakle, igle s malim radijusom vrha i velikom debljinom stijenke smatraju se najboljom mogućnošću. Također, pri izradi MN potrebno je uzeti u obzir i problem začepljenja MN koji se može pojaviti nakon umetanja (39). Olatunji i sur. potvrdili da je sila potrebna za prodiranje ovisna o međusobnom razmaku između MN u nizu, ali potrebno je postaviti optimalan broj MN u niz kako bi se povećala isporuka lijeka jer previše MN će smanjiti prodiranje i učinkovitost (64). Kochhar i suradnici dokazali su da povećanjem razmaka između MN u nizu rezultira povećanom silom primjene po MN i većim prodiranjem kroz kožu. Nadalje, Davidson i suradnici proučavali su najučinkovitiju geometriju MN za učinkovit prolazak MN u/kroz kožu i zaključili su da šire, dulje te gušće zbijene MN dovode do veće učinkovitosti permeabilnosti kože. Teo i suradnici su pokazali da je potrebno uzeti u obzir oštrinu i vrstu materijala pri projektiranju MN. Također, pri proučavanju i

testiranju MN različitih geometrija znanstvenici su došli do zaključka da bez obzira na oštrinu vrha MN, ručna primjena MN nije dosljedna i moguća je pojava određenih poteškoća (37). Kako bi se osigurala dosljedna penetracija MN neovisna o ručnom umetanju MN pacijenta, bilo je potrebno razviti prikladnu metoda primjene i odgovarajućeg uređaja. Upotreba aplikacijskih uređaja pokazala osigurava je vrhunsko prodiranje MN u kožu u usporedbi s ručnom primjenom (65).

Al-Qallaf i suradnici istražili su utjecaji različitih varijabli povezanih s MN i njihov utjecaj na transport lijeka kroz kožu korištenjem matematičkih modela. Neki čimbenici koji su uzeti u obzir su: duljina MN, vrijeme trajanja primjene, veličina flastera i primjena u različitim anatomskim regijama. Glavni cilj ovog rada bio je utvrditi utjecaj ovih čimbenika na koncentraciju lijekova u krvi. Glavni nalazi studija ukazuju na to da se koncentracija molekule lijeka u krvi može povećati povećanjem duljine MN ili površine flastera. Predložene su optimizirane izvedbe za krute i šuplje MN i kod njih je uočena veća propusnost kože smanjenjem omjera visine igle iznad radijusa igle i povećanje broja MN. Međutim, ovi rezultati su dobiveni korištenjem teorijskog modela koji bi trebao biti eksperimentalno validiran.

Mnogo je čimbenika koji utječu na primjenu MN, a geometrija i dizajna MN ovise o vrstama materijala. Međutim, svi do sada dobiveni rezultati očigledno ne mogu biti ekstrapolirani izravno na pojedine vrste nizova MN (37).

3.6. Prednosti i nedostaci TDD mikroiglama

3.6.1. Prednosti

Prvi eksperimentalni rad o primjeni MN objavili su Henry i suradnici koji su pokazali da se korištenjem silicijskih MN može povećati propusnost kože do tri puta za ispitivani model lijeka i zapravo povećati dostava lijeka transdermalno (37, 41). Od tada su MN intenzivno istraživane, a 2001. godine je Kaushik dokazao njihovu bezbolnu primjenu na ljudima (41,

71). Bezbolna primjena MN je jedna od glavnih prednosti u usporedbi s potkožnim iglama, a posljedica je dizajna MN namijenjenih transdermalnoj primjeni. MN mogu biti proizvedene dovoljno duge da mogu prodrijeti u SC, ali opet dovoljno kratke kako ne bi probile živčane završetke zbog čega je njihova primjena i bezbolna. Pored bezbolne primjene, MN imaju i niz drugih prednosti u odnosu na druge postupke primjene lijeka kroz kožu zbog čega se smatraju naprednim i učinkovitim sustavima za transdermalnu primjenu lijeka. Za razliku od klasičnih transdermalnih flastera, MN osiguravaju primjenu lijekova koji se ne prenose pasivnom difuzijom kroz rožnati sloj kože, dok istodobno veličina molekule djelatne tvari nije ograničavajući čimbenik (16). Mikropore koje stvaraju MN mnogo su većih dimenzija u usporedbi s molekulama lijekova, pa se MN mogu upotrijebiti za isporuku makromolekula kao što su hormona rasta, inzulin, peptidi i proteini (57).

Prednosti primjene MN je kontrolirana i ciljana isporuka malih molekula, makromolekula, cjepiva ili nukleinskih kiselina specifična tkiva u specifična tkiva kože te brza dostava u sistemske cirkulaciju (16). Jedna od najatraktivnijih primjena MN je njihovo korištenje za transkutano cijepljenje. Koža predstavlja potencijalno idealno neinvazivno mjesto cijepljenja zbog svojih jedinstvenih imunoloških svojstava, a transkutana imunizacija je ograničena slabom propusnosti kože za makromolekule. Primjena cjepiva pomoću MN osigurava minimalno invazivan način primjene uz smanjenje troškova cijepljenja. Također, osigurava primjenu manjih doza u usporedbi s supkutanom i intramuskularnom primjenom, a što je najvažnije sposobno je izazvati snažan i zaštitni imuni odgovor (52). Kao i kod ostalih transdermalnih načina isporuke lijeka najznačajnije prednosti primjene MN u usporedbi s ostalim načinima primjene su izbjegavanje razgradnje lijeka u probavnom sustavu i zaobilazanje prvog prolaska kroz jetru što kao rezultat ima poboljšanu bioraspoloživost i primjenu niže doze lijeka. Također, omogućena je smanjena učestalost doziranja te isporuku lijeka i kroz 7 dana. Zbog neinvazivne, diskretne i jednostavne primjene, smanjene učestalosti doziranja MN predstavljaju TDDS prilagođen pacijentima (engl. *patient friendly*), ali pružaju i mogućnost jednostavne primjene kod pacijenata u besvjesnom stanju. Zbog vrlo dobre podnošljivosti bez dugoročnog edema ili eritema, bez pojave krvarenja i infekcija,

primjena MN posebno je klinički prikladna kod pedijatrskog cijepljenja i pacijenata s tripanofobijom. MN se mogu proizvoditi od različitih materijala na konzistentan i ekonomičan način u monoštvu geometrija i dizajna ovisno o potrebama različitih primjenama (16, 37). Tako su razvijene i razgradljive/biorazgradljive MN koje se u odnosu na čvrste i šuplje MN mogu otopiti/razgraditi u koži te osiguravaju sigurnu primjenu i nema zaostajanja biološki opasnog otpada (15).

Zbog mnogobrojnih prednosti primjene MN znanstvenici pokazuju veliko zanimanje za mikroigličnu tehnologiju što pokazuje brzo rastući broj znanstvenih radova i patentnih publikacija pa je njihova primjena proširena i na okularnu i ciljanu dostavu lijekova (15).

3.6.2 Nedostaci

Prethodno navedene prednosti primjene MN u TDD sažete su u Tablici 5. zajedno s nekim od nedostataka ovavog načina TDD lijeka, a svakako najvažniji nedostatak je manja preciznost doziranja u odnosu na supkutanu primjenu kao i varijabilnost dubine penetracije MN ovisno o individualnim razlikama u debljini rožnatog i drugih slojeva kože (38).

Tablica 5. Prednosti i nedostaci primjene mikroigli (prilagođeno prema literaturnom navodu 16).

Prednosti	Nedostaci
<ul style="list-style-type: none"> – Mehanizam isporuke nije temeljen na difuziji kao kod drugih transdermalnih sustava za primjenu lijeka – Mogućnost industrijske proizvodnje od različitih materijala na konzistentan i ekonomičan način – Mogućnost proizvodnji dovoljno dugih MN da mogu prodrijeti u SC, ali dovoljno kratkih da ne probodu živčane završetke – Bezbolna, minimalno invazivna primjena bez pojave krvarenja i infekcija – posebno klinički prikladna kod pedijatrskog cijepljenja i pacijenata s tripanofobijom – Mogućnost samoliječenja – Mogućnost kombiniranja primjene s drugim sustavima za transdermalnu primjenu lijeka – Ciljana isporuka malih molekula, makromolekula, cjepiva ili nukleinskih kiselina u specifična tkiva 	<ul style="list-style-type: none"> – Mogućnost pojave lokalne upale uslijed velike količine lijeka u koži – Mogućnost pojave iritacija kože – Mogućnost težeg nanošenja na kožu – Potrebna obuka odgovarajuće tehnike primjene – Mogućnost savijanja i lomljenja vrha igle ispod kože

-
- Izbjegavanje prvog prolaska kroz jetru i iritacije probavnog trakta
 - Brza dostava lijekova u sistemsku cirkulaciju
 - Smanjena učestalost doziranja
 - Predstavlja „*Patient friendly*“ sustav za TDD
 - Mogućnost kontroliranje primjene
 - Lako raspoložive i potencijalno biorazgradljive
-

Također, važno je napomenuti da koža predstavlja otpor koji se javlja pri penetraciji MN kroz kožu ili bilo koje drugo biološko tkivo što može uzrokovati tešku primjenu MN na kožu te je potrebno educirati bolesnika i/ili zdravstvenog djelatnika o odgovarajućim tehnikama primjene MN (37). Barijerna funkcija kože nije jednaka na svim dijelovima tijela iste osobe, a također razlikuje se od osobe do sobe i ovisi o starosti osobe. Stoga je vrlo važno osigurati da svaki pacijent dobije istu potrebnu dozu tijekom svake primjene MN pa je nekad potrebno osigurati primjenu aplikatora kako bi se postigla reproducibilna dubina prodiranja (57). Kao što je i navedeno u Talici 5. vidljivi nedostaci koji se mogu pojaviti pri upotrebi MN uključuju mogućnost upale u okolnim tkivima ukoliko je velika količina lijeka ispod kože, pojavu iritacije kože zbog njezine osjetljivosti ili alergije te mogućnost lomljenja i zaostajanja MN pod kožom (47, 52). Također, još uvijek je nedovoljno istraženo uzrokuju li nuspojave otopljenog ili razgrađenog matriksa u slučaju učestalog korištenja MN. Pri proizvodnji nekih MN potrebna je primjena vakuuma i temperature više i od 135°C, a takvi uvjeti mogu biti štetni za lijekove osjetljive na temperaturu, posebno za proteine i peptide (57). Iako je očito je da postoji jasno tržište za uspješnu industrijsku proizvodnju MN, industrijska proizvodnja još uvijek nije u potpunosti istražena zbog težine prilagodbe proizvodnje iz laboratorijskih u industrijska mjerila proizvodnje.

Komercijalno dostupne MN, nisu MN pravom smislu riječ pa posljedično tome ne postoje ni prihvaćeni regulatorni standardi ni jasni standardi kvalitete kojima se procjenjuje kvaliteta proizvoda za prave mikroiglične proizvode što stvara dodatne probleme vezane za industrijsku proizvodnju koja zahtjeva prihvaćene standarde (73).

Iako rezultati provedenih istraživanja ukazuju da jasnost i zdravstveni djelatnici podupiru uvođenja MN u kliničku praksu, javljaju se pitanja o praktičnosti primjene MN, njihovoj učinkovitosti i sigurnosti te troškovima povezanim s razvojem ovakvih sustava (52).

Budući da je isporuka lijeka pomoću MN temeljena na novom konceptu sasvim je opravdana zabrinutost regulatornih tijela i znanstvenika vezan za sigurnost primjene kod krajnjih korisnika (66).

3.7. Regulatorni aspekt TDD mikroiglama

Regulatorni zahtjevi i standardi kvalitete za mikroiglične sustave još uvijek nisu jasno definirani zbog inovativne prirode ove tehnologije i jer još uvijek na tržištu ne postoje prave MN. Kreiranje odgovarajuće specifikacije tijekom razvoja proizvoda vrlo je važan dio sustava osiguranja kvalitete i nužno je za osiguranje dosljedne proizvodnje visoko kvalitetnih lijekova/proizvoda. Međutim, kreiranje specifikacije za MN nije u potpunosti moguće jer nije odgovoreno na mnoga regulatorna pitanja koja su ključna za kreiranje specifikacija (37). Prema ICH-ovoj smjernici *Q6A specifications: test procedures and acceptance criteria for new drug substances and new drug products: chemical substances* (CPMP/ICH/367/96) specifikacija se definira kao popis testova, reference na analitičke postupke i odgovarajuće kriterije prihvaćanja, a to su numeričke granice, rasponi ili drugi kriteriji za opisane testove. Specifikacije su kritični standardi kvalitete koji su predloženi i opravdani od strane proizvođača te odobreni od strane regulatornih tijela kao uvjeti odobrenja. Smjernica navodi i da dozni oblici navedeni u smjernici uključuju čvrste oralne oblike, tekuće oralne oblike i parenteralne oblike (malog i velikog volumena). Također navedeno je da se potiče primjena koncepta navednog u smjernici i na druge oblike doziranja, topikalne formulacije te transdermalne sustave. Iz toga se može zaključiti da MN spadaju u opseg ICH Q6A smjernice i da je potrebno definirati specifikaciju za sve tipove MN (37, 72). Ova činjenica zasigurno pomaže pri njihovom razvoju te ubrzava dostavu MN iz faze laboratorija do pacijenta, a da bi se to postiglo važno je znati koji su željeni kriteriji na kojima se treba

temeljiti specifikacija proizvoda (73). Budući da MN probijaju SC, a u nekim slučajevima dolaze i do dermisa važno je upostaviti i mikrobiloški standard. Ujednačenost sadržaja je uobičajen farmakopejski zahtjev, ali ga potrebno primijeniti i na MN kao i ostale uobičajne aspekte kvalitete koji se primjenjuju na druge dozni oblike. Također, vrlo je važno osigurati sigurnosnu ambalažu. MN, posebno one izrađene od silicija, metala i keramike, mogu se netaknute skinuti s kože što potencijalno omogućava njihovu ponovnu uporabu. Zbog sigurnosnih razloga, potrebno je osigurati jednokratnu uporabu, npr. samoonemogućavajućim (engl. *self-disabling*) sustavom. Kao što je ranije spomenuto, neke vrste MN nisu razgradljive/biorazgradljive i lako se mogu ponovno koristiti pa je potrebno osigurati siguran postupak njihovog zbrinjavanja. Razgradljive, polimerne MN mogu taložiti u koži materijale od kojih su proizvedene, što može dovesti do nuspojava, posebno kod proizvoda koji se koriste duže vrijeme. To sigurno neće biti glavni problem za jednokratnu primjenu MN kao npr. kod cjepiva. Potrebno je osigurati jednostavnu, pouzdanu i pravilnu primjenu kako bi pacijenti mogli samostalno koristiti proizvode, bez komplikacija te na ispravan način. Također, regulatorna tijela trebaju osigurati imunološku sigurnost, a potrebno je provesti i dugoročne studije sigurnosti. Osiguranje sigurnosti i učinkovitosti tehnologije isporuke lijeka MN kroz daljnja istraživanja zauzvrat bi dovelo do prihvaćanja i popularizacije MN među pacijentima (37).

Mikroiglama, kao i nekim drugim sustavima za isporuku lijeka, teško se može odrediti status jer su to zapravo granični proizvodi između lijekova i medicinskih proizvoda (engl. *borderline products*) tj. „kombinirani proizvodi“ (engl. *combination product*).

Prema FDA definiciji kombinirani proizvod može uključivati terapijski i dijagnostički proizvod u kombinaciji s lijekom, uređajem i/ili biološkim proizvodom (74).

FDA je 2002. godine osnovala Ured za kombinirane proizvode (engl. *Office of Combination Products*, OFC) kako bi se osigurao odgovarajući regulatorni okvir za proizvode koji se ne uklapaju u utvrđene kategorije lijekova, medicinskih proizvoda i bioloških proizvoda (58).

Međutim, u EU nema pravne definicije ni klasifikacije za kombinirani proizvod (engl. *combination product*) tj. za proizvod u kojem su lijek i medicinski uređaj predstavljeni zajedno

ili kao cjelovita kombinacija ili prezentirani odvojeno za zajedničko korištenje, iako su takve kombinacije uobičajene (75).

U EU su postavljena dva skupa zakona i regulatornih sustava koji djeluju drugačije; proizvod je ili lijek ili medicinski proizvod. Regulatorni zahtjevi u EU propisani su Direktivom 2001/83/EEZ koja se primjenjuje na lijekove te Direktivom 93/42/EEZ koja se primjenjuje na medicinske proizvode i njihov pribor. Ovisno o glavnom načinu djelovanja (engl. *Principal Mode of Action*) proizvoda, proizvod se svrstava u kategoriju lijeka ili medicinskog proizvoda. Prema čl. 1. Direktive 2001/83/EC, koji odgovara čl. 3. Zakona o lijekovima (Narodne novine br. 76/13) lijek svoju primjenu postiže farmakološkim, imunološkim ili metaboličkim djelovanjem, dok prema čl. 1 Direktive 93/42/EEZ, koji odgovara čl. 3. Zakona o medicinskim proizvodima (Narodne novine br. 76/13) medicinski proizvod ne postižu farmakološkim, imunološkim ili metaboličkim učincima, iako njihovo djelovanje može biti potpomognuto takvim učincima (76, 77, 78, 79).

2017. godine u Službenom listu EU objavljene su Uredba (EU) 2017/745 i Uredba (EU) 2017/746 Europskog parlamenta i Vijeća koje predstavljaju novi, moderniji i snažniji zakonodavni okvir za reguliranje područja medicinskih proizvoda u EU. Novom uredbom (EU) 2017/745 ili Direktivom 2001/83/EC trebala bi se osigurati odgovarajuća inercija u pogledu savetovanja tijekom ocijenjivanja prije stavljanja kombiniranih proizvoda na tržište te razmjene informacija u kontekstu aktivnosti vigilancije kod takvih proizvoda. Za lijekove koji sadrže dio koji je medicinski proizvod trebalo bi na primjeren način ocijeniti usklađenost tog dijela koji je proizvod s općim zahtjevima sigurnosti i učinkovitosti utvrđenima Uredbi (EU) 2017/745 u kontekstu izdavanja odobrenja za stavljanje na tržište takvih lijekova što znači da bi Direktivu 2001/83/EZ trebalo izmijeniti (80, 81, 82).

Ukoliko se predaje zahtjev za davanje odobrenja za stavljanje lijeka na tržište EU, a lijek je u kombinaciji s određenim medicinskim proizvodom, potrebno je uključiti i informacije o medicinskom proizvodu u dokumentaciju o lijeku koja se predaje u obliku Zajedničkog tehničkog dokumenta (engl. *Common Technical Document*, CTD). Prema uputi *Notice to Applicant (NTA), Medical product for human use, Volume 2B Presentation and format of the*

dossier, Common Technical Document (CTD). Informacije o medicinskom proizvodu potrebno je uključiti u određena poglavlja Modula 3; Modul 3.2.P Gotov Proizvod koji obuhvaća podatke o gotovom proizvodu (3.2.P) te u poglavlje Modul 3.2.R Regionalne Informacije (engl. *Regional Information*). Potrebno je priložiti dokaz da uređaj udovoljava zahtjevima Direktive o medicinskim proizvodima 93/42/EEZ i izmjenama i dopunama iz 2007/47/EEZ. Ukoliko se upotrebljava uređaj za doziranje važno je dokazati da se reproducibilna i točna doza proizvoda isporučuje u uvjetima ispitivanja koji, koliko je to moguće, simuliraju upotrebu proizvoda (83).

Također, opis medicinskog proizvoda te njegove upute za upotrebu potrebno je priložiti u Uputu o lijeku (engl. *Patient Information Leaflet, PIL*) i Sažetak opisa svojstava o lijeku (engl. *Summary of Product Characteristics, SmPC*) koji su dio Modula 1 CTD-a (84).

Međutim zbog nedefiniranih standarda i zahtjeva zbog kontinuiranog razvoja različitih medicinskih proizvoda i zakonskih razlika za medicinske proizvode i lijekove podaci dostavljeni u dosjeima uz zahtjev za odobrenje za stavljanje gotovog lijeka u promet vrlo često se smatraju nedosljednim i nedovršeni (75).

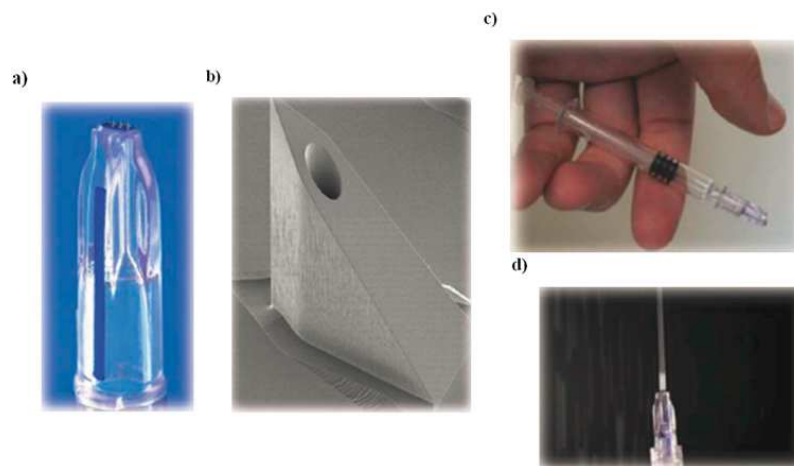
Razgradljive MN koje su izrađene od polimernih matrica u koje je uklopljena djelatna tvar mogu se klasificirati kao npr. tablete koje također otpuštaju djelatnu tvar, dok hidrogel formirajuće ili metalne MN kod kojih se nakon isporuke lijeka MN uklanjaju s kože, mogu se svrstati ili u parenteralne ili u medicinske proizvode. Ali isto tako sve spomenute MN se mogu klasificirati kao lijek (73).

Ispravna klasifikacija postaje vrlo bitna u trenutku kada proizvođač želi proizvoditi komercijalni proizvod jer mora znati s kojim standardima kvalitete se mora uskladiti pa je zato preporučeno da podnositelji zahtjeva za stavljanje lijeka/medicinskog proizvoda na tržište koji su u nedomoci kako klasificirati razvoj proizvoda kontaktiraju EMA-u jer se odluka o klasifikaciji donosi od slučaja do slučaja (73, 75).

Budući da EMA bilježi sve veći broj zahtjeva za znanstvenim savjetovanjem vezano za kombinirane proizvode i zahtjeva za odobrenje za stavljanje lijeka u promet koji sadrže medicinski proizvod za dostavu ili uporabu lijeka, objavila je novi konceptni dokument o izradi

smjernica o zahtjevima kvalitete lijekova koji sadrže medicinski proizvod za dostavu ili uporabu lijeka „EMA/CHMP/QWP/BWP/661488/2016 *Concept paper on developing a guideline on Quality requirements of medicinal products containing a device component for delivery or use of the medicinal product*“. Definirati će se smjernice koje će uzeti u obzir zahtjeve kvalitete u odnosu na sigurnost i performanse medicinskog proizvoda, bilo da je ona integralna komponenta ili samostalni uređaj, uključujući i studije upotrebljivosti kod ciljnih pacijenata s odgovarajućim kliničkim uvjetima. Također će se razmotriti i upravljanje promjenama tijekom životnog ciklusa kombiniranih proizvoda i to će uključivati zahtjeve za izmjenama u kvaliteti kombiniranih proizvoda (75).

Trenutno niti jedan proizvod koji isporučuje lijek pomoću pravih MN nije dostupan na tržištu. Prvi mikroiglični proizvod dostupan na tržištu bio je Dermaroller® koji se sastoji od cilindričnog valjaka čija površina je prekriven s čvrstim metalnim MN duljine od 0,2 do 2,5 mm i služi za poboljšanje teksture kože te za liječenje ožiljaka i hiperpigmentacije (15). Trenutno su dostupni uređaji MikronJet 600 i BD Soluvia™, ali oni nisu u stvari MN već vrlo kratke šuplje igle koje omogućuju uspješnu intradermalnu injekciju iz konvencionalne šprice. Nanopass Technologies Ltd. razvio je MikronJet 600 (Slika 12.) koji je odobren je od strane FDA u 2010. godini kao medicinski proizvod koji je namijenjen za ubrizgavanje tekućina ispod površine kože. Također, ima CE oznaku sukladnosti u EU te je registriran u Kanadi, Hong Kongu i drugim zemljama. Ovaj sterilni uređaj za jednokratnu primjenu sastoji se od tri šuplje silikonske mikroigle piramidalnog oblika duljine 600 µm pričvršćene za plastični uređaj koji se može spojiti na bilo koju konvencionalnu špicu (37, 85, 86).



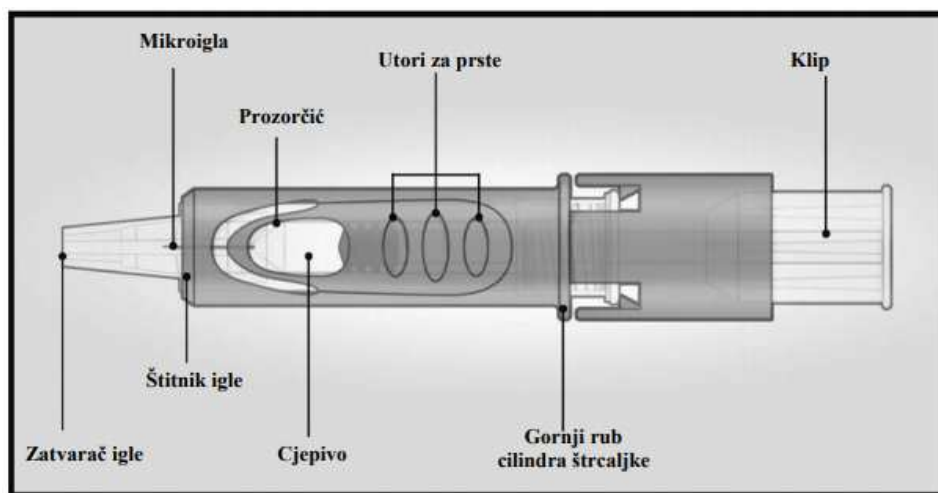
Slika 12. MicronJet600 MN i pričvršćivanje na standardnu injekciju: a) MicronJet600; b) SEM slika pojedinačne MN; Top c) igla pričvrštena na već napunjenu injekciju; d) smjer ubrizgavanja (prilagođeno prema literaturnom navodu 86).

Izvorna verzija MicronJeta koja je korištena u kliničkim ispitivanjima provedenim u 2007-2008 sadržavala je 4 MN duljine 450 mm vrlo sličnog dizajna kao komercijalna MicronJet 600. Karakteristike izvedbe originalnog modela bile su slične, ali tehnika umetanja bila je manje intuitivna te je zahtjevala umetanje na oko 60 stupnjeva i spuštanje štrcaljke dok je u koži na oko 30 stupnjeva. MicronJet600 je razvijen kako bi se poboljšala jednostavnost upotrebe te zahtjeva umetanje pri prirodnijem kutu od oko 45 stupnjeva bez naknadnog podešavanja položaja (86). MikronJet 600 sustav proučavan je za cijepljenje protiv gripe (180 zdravih odraslih osoba), te je pokazao sličan imunogeni odgovor primjenom manjih doza kao kod intramuskularnog cijepljenja punih doza (37). Ovaj uređaj je pokazao značajnu uštedu doze, koristeći samo 20% doze cjepiva protiv gripe, i superiornu imunogenost u različitim kategorijama cjepiva, kao i u različitim populacijama i dobnim skupinama. Također, studije su pokazale da je intradermalna dostava pomoću ovog uređaja sigurna, učinkovita i poželjna od strane subjekata (52, 86).

Klinički najnapredniji pristup mikroiglične tehnologije (engl. *mini-needle technology*) predstavlja kombinacija cjepiva protiv gripe Intanza (Sanofi Pasteur MSD Ltd.) i BD Soluvia™ injektora (Becton, Dickinson and Company) (86).

BD Soluvia™ je štrcaljka s jednom intradermalnom iglom dužine 1,5 mm namijenjenom za isporuku 100-200 µl tekućine (Slika 13) (87). Dokazano je da nudi jednostavnu i pouzdanu metodu isporuke. Dok se većina cjepiva ubrizgava u mišić, ovaj sustav omogućuje isporuku cjepiva unutar dermalnog sloja kože. Dermalni sloj sadrži gustu mrežu limfnih žila koje omogućuju brz i učinkovit pristup cjepiva u imunološki sustav, ali sadrži i visoku koncentraciju moćnih imunoloških stanica koje imaju ključnu ulogu za pokretanje imunog odgovora nakon cijepljenja (88).

Intanza je intradermalno cjepivo protiv gripe koje je dostupno kao suspenzija za injekcije u napunjenoj štrcaljki. Cjepivo sadrži fragmente virusa influence (gripe) koji su bili inaktivirani. Intanza sadrži 15 mikrograma svake od tri različita soja (sorti) virusa influence. Mikroinjekcijski sustav za primjenu u kožu sastoji se od štrcaljke s mikroiglom (1,5 mm) napunjene cijepivom te sustava zaštite za iglu koji je namijenjen pokrivanju mikroigle nakon uporabe. Intanza suspenzija za injekciju je lijek odobren centraliziranim postupkom (CP) davanja odobrenja za stavljanje u promet lijeka za sve zemlje članice Europske unije temeljem stručne ocjene Europske agencije za lijekove (EMA) 24.02.2009 (89).



Slika 13. Intanza suspenzija za injekciju - Mikroinjekcijski sustav (prilagođeno prema literaturnom navodu 89).

Osim Intanza, ovaj ubrizgavač je trenutno komercijaliziran širom svijeta kao IDflu1 i Fluzone Intradermal. MN mogu prodrijeti i kroz naudaljenije slojeve kože što ukazuje na drugačiji

mehanizam djelovanja naspram konvencionalnih transdermalnih flastera koji se primjenjuju samo na površinu kože te se iz regulatorne perspektive može zaključiti da će MN biti definirane kao novi dozni oblik (37).

4. RASPRAVA

Tisućama godina spojevi su nanose na kožu kako bi se poboljšala njena ljepota i liječili lokalni uvjeti. Iako je koža idealno mjesto za lokalnu i sistemsku primjenu lijekova, ujedno predstavlja i impresivnu prepreku za prodiranje većine lijekova.

TDD predstavlja neinvazivnu metodu dostave lijeka kroz kožu u sistemsku cirkulaciju, ali i omogućuje izbjegavanje razgradnje lijeka u probavnom sustavu i iritacije probavnog sustava, zaobilazanje prvog prolaska kroz jetru, poboljšanu bioraspoloživost lijeka, primjenu niže doze djelatne tvari te smanjenu učestalost doziranja. Zbog smanjene učestalosti doziranja transdermalni terapijski sustavi su jeftiniji i suradljivost pacijenta u provođenju terapije je povećana.

Nedavna istraživanja na području TDD imaju cilj razviti odgovarajuće strategije za prevladavanje kožne barijere kako bi se olakšalo brzo i učinkovito propuštanje šireg raspona molekula, uključujući makromolekula lijekova i genetskog materijala. Savladavanje kožne barijere je moguće optimiranjem formulacije lijeka ili manipulacijom funkcije SC barijere, što se može postići pasivnim/kemijskim ili aktivnim/fizičkim metodama. Kemijske metode za poboljšanu isporuku djelatnih tvari tj. pasivni načini optimiranja TDD uključuju prilagodnu međudjelovanja lijeka i nosača te prilagodbu svojstava SC. Razvojem biotehnologije i primjenom djelatnih tvari velikih molekularnih težina (> 500 Da) javlja se potreba za upotrebnom vanjske energije kao pokretačke snage za prijenos djelatne tvari kroz kožu ili za fizičko narušavanje strukture SC tj. primjena aktivnih/ fizičkih metoda kao što su npr. iontoforeza, elektroporacija, ultrazvuk (sonoforeza), mikroigle.

Razvijeni su različiti terapijski sustavi za transdermalnu dostavu lijeka s ciljem prevladavanja ograničenja i osiguravanja što bolje transdermalne dostave lijeka, a inovativnost je vidljiva kroz nekoliko generacija. Predstavnici prve generacije TDDS su tradicionalni transdermalni flasteri i njihov razvoj je bio usredotočen na prilagodbu fizičko-kemijskih značajki djelatnih tvari i optimiranje formulacije kako bi se omogućila njihova maksimalna difuzija kroz kožu. Druga generacija TDDS uključuje neinvazivnu dostavu uz maksimalno povećanje prijenosa djelatne tvari kroz kožu pomoću kemijskih pojačivača ili vanjskih izvora energije kao što su ne-kavitacijski ultrazvuk i iontoforeza. TDDS druge generacije ne povećavaju značajno

učinkovitost primjene hidrofilnih djelatnih tvari i djelatnih tvari velike molekulske mase pa je vrlo brzo prihvaćen alternativni pristup korištenja minimalno invazivne i kontrolirane primjene lijeka koji predstavlja TDDS treće generacije. Minimalno invazivna oštećenja kože omogućuju učinkovitu isporuku velikog broja hidrofilnih i makromolekulskih djelatnih tvari kroz kožu, ali oštećenja trebaju biti najmanja moguća bez neželjenih oštećenja unutarnjih slojeva kože. Novije tehnologije koje koriste TDDS treće generacije za poboljšanu isporuku djelatne tvari i za povećanje opsega molekula koje se mogu dostaviti kroz kožu uključuju iontoforezu, UZV i laserske tehnike, termalnu i RF ablaciju te uporabu raznih vrsta mikroigala.

Dosadašnji razvoj TDDS imao je za cilj osigurati što bolju učinkovitost isporuke, ali znatan pomak se događa razvojem TDDS koji omogućuju personaliziranu terapiju. Personalizirana se terapija razlikuje od uobičajenih medicinskih postupaka u smislu optimiziranja liječenja na temelju patofiziološkog stanja pojedinog pacijenta. Kao odgovor na sve veću potrebu za personaliziranom terapijom, razvoj četvrte generacije TDDS fokusiran je na napredne sustave transdermalne primjene koji uključuju korištenje biokemijske elektronike.

Mikroigle se oblikuju kao čvrste ili šuplje cjevčice duljine od 50 μm do 900 μm , mikrometarskog promjera uglavnom manjim od 300 μm i zbog svog dizajna mogu prodrijeti do dermisa, ali su dovoljno kratke i uske da izbjegnu stimulaciju i oštećenja dermalnih živaca ili dermalnih krvnih žila. S ciljem optimiranja obima isporuke lijeka i postizanja zahtijevanih terapijskih ciljeva MN se izrađuju u različitim oblicima te različite veličine i gustoće po jedinici površine potporne ili adhezivne membrane. Glavna svrha MN je prodiranje u/kroz kožu ili bilo koje drugo biološko tkivo bez njihovog lomljenja ili savijanja te učinkovita TDD. Samo MN s odgovarajućom geometrijom i fizikalnim svojstvima mogu prodrijeti u/kroz kožu bez lomljenja ili savijanja prilikom umetanja. Glavni čimbenici koji utječu na silu loma i umetanja su vrsta materijala, geometrija MN i gustoća MN u nizu.

MN se proizvode od različitih materijala kao što su silicij, metal, keramika, polimeri i ugljikohidrati, a za proizvodnju MN se koriste MEMS tehnologija, tehnologije iz industrije stakla te novije tehnike za izradu kao što su DAB, CLIP i 2PP.

MN se mogu podijeliti na čvrste MN koje stvaraju mikropore u SC i šuplje MN koje preko uske kapilare mogu direktno ubrizgavati djelatnu tvar u/kroz kožu.

Tri su glavna mehanizma kojim se mogu koristiti čvrste MN za isporuku lijeka u kožu, a to su (i) „*poke with patch*“, (ii) „*poke and release*“ i (iii) „*coat and poke*“ pristupi. „*poke with patch*“ pristup uključuje primjenu čvrstih MN na kožu te primjenu na kožu neke konvencionalne formulacija u obliku vanjskog spremnika nakon uklanjanja MN. Prolazak lijeka kroz stvorene mikropore odvija se pasivnom difuzijom. Razgradljive MN su čvrste MN kod kojih je TDD zasnovana na „*poke and release*“ pristupu. „*poke and release*“ pristup podrazumijeva primjenu čvrstih MN koje su napunjene djelatnom tvari uklopljenom u razgradljive polimere koji služe kao depoi. Nakon umetanja MN, vrhovi MN se otapaju ili razgrađuju nakon kontakta s kožnom međuprostornom tekućinom čime se oslobađa inkapsulirani lijek. Biorazgradljive MN također mogu biti uključene u kategoriju razgradljivih MN. Proizvode se od biorazgradljivih polimera za stvaranje matrixa, a nakon umetanja u kožu oni degradiraju ispuštajući djelatnu tvar i ne otapaju se u koži čime bi otpuštanje moglo biti održano mjesecima odabirom odgovarajućeg polimera. MN kod kojih je TDD zasnovana na „*coat and poke*“ nazivaju se i obloženim MN. Kod obloženih MN tekući ili polučvrsti farmaceutski oblici djelatnih tvari su obloženi na površinu čvrstih MN. Upotrebom obloženih MN željena doza lijeka je dostavljena u tkivo brzo nakon umetanja MN u kožu, ali je količina lijeka ograničena. Šuplje MN su poput redovitih potkožnih igala samo su kraće duljine, a način isporuke lijeka šupljim MN naziva se „*poke and flow*“. „*poke and flow*“ ima sposobnost isporuke veće količine formulacije u odnosu na čvrste, obložene i razgradljive MN. Pomoću šupljih MN djelatna tvar se može isporučiti izravno u epidermu ili dermis izbjegavajući SC što je korisno za isporuku spojeva visoke molekulske mase kao što su proteini, oligonukleotidi i cjepiva. Hidrogel formirajuće MN su relativno novi tip MN, a prema definiciji hidrogela jedna vrsta polimernih ili polisaharidnih MN. Nakon primjene MN na kožu, umetnuti vrhovi igala brzo uvlače međustaničnu tekućinu iz tkiva, čime se inducira difuzija lijeka iz flastera kroz izbubrene MN. Isporuka lijeka može se kontrolirati podešavanjem gustoće poprečnih veza hidrogelnog matriksa što znači da se isporuka lijeka može prilagoditi tako da zadovolji

zahtjeve različitih lijekova s različitom terapijskom širinom. Hidrogel formirajuće MN se čitave uklanjaju iz kože ne ostavljajući mjerljive polimerne ostatke iza sebe što predstavlja značajnu prednost u odnosu na razgradljive MN.

MN se smatraju naprednim i učinkovitim sustavima za transdermalnu primjenu lijeka zbog raznih prednosti u odnosu na druge postupke primjene lijeka kroz kožu. Pored bezbolne primjene, MN imaju i niz drugih prednosti kao što su ciljana isporuka malih molekula, makromolekula, cjepiva i nukleinskih kiselina u specifična tkiva, kontrolirana primjena lijeka, smanjena učestalost doziranja. Također, MN su *patient friendly* TDDS-i koji su klinički prikladni i za pedijatrijsko cijepljenje te za primjenu kod pacijenata s tripanofobijom. U usporedbi s klasičnim transdermalnim flasterima, MN osiguravaju primjenu lijekova koji se prenose pasivnom difuzijom kroz SC, a veličina molekule djelatne tvari nije ograničavajući čimbenik za primjenu MN. Kao i kod ostalih transdermalnih načina isporuke lijeka najznačajnije prednosti primjene MN u usporedbi s ostalim načinima primjene su izbjegavanje razgradnje lijeka u probavnom sustavu i zaobilazanje prvog prolaska kroz jetru što kao rezultat ima poboljšanu bioraspoloživost i primjenu niže doze lijeka, dobra podnošljivost bez dugoročnog eritema ili edema. Nedostaci primjene lijeka korištenjem MN su manja preciznost doziranja u odnosu na supkutanu primjenu kao i varijabilnost dubine penetracije MN ovisno o individualnim razlikama u debljini rožnatog i drugih slojeva kože. Koža predstavlja otpor koji se javlja pri penetraciji MN kroz kožu i to može uzrokovati poteškoće pri primjeni MN, a vrlo je važno osigurati da svaki pacijent dobije istu potrebnu dozu tijekom svake primjene MN. Vidljivi nedostaci koji se mogu pojaviti pri upotrebi MN uključuju mogućnost upale u okolnim tkivima ukoliko je velika količina lijeka ispod kože, pojavu iritacije kože zbog njezine osjetljivosti ili alergije te mogućnost lomljenja i zaostajanja MN pod kožom. Također, nedovoljno je istraženo uzrokuju li nuspojave otopljene ili razgrađene sastavnice matriksa u slučaju učestalog korištenja MN.

Tržište za uspješnu industrijsku proizvodnju MN postoji, ali industrijska proizvodnja još uvijek nije u potpunosti istražena zbog težine prilagodbe proizvodnje iz laboratorijskih u industrijska mjerila. Dodatni problem vezan za industrijsku proizvodnju komercijalnih MN je ne postojanje

prihvaćenih regulatornih standarda ni jasnih standarda kvalitete kojima se procjenjuje kvaliteta mikroigličnih sustava jer zapravo komercijalno dostupne MN i nisu prave MN.

S regulatornog aspekta, MN su proizvodi „*na granici*” između lijekova i medicinskih proizvoda tj. „*kombinirani proizvodi*”. Budući da u EU nema pravne definicije ni klasifikacije za kombinirani proizvod, iako su takvi proizvodi uobičajeni, te zbog nedefiniranih standarda i zahtjeva preporučeno je kontaktirati EMA-u za regulatorne savjete vezano uz klasifikaciju i postupku prijave aplikacije.

Zbog sve većeg broja zahtjeva za znanstvenim savjetovanjem vezano za kombinirane proizvode i zahtjeva za odobrenje za stavljanje lijeka u promet koji sadrže medicinski proizvod za dostavu ili uporabu lijeka, EMA je objavila novi konceptni dokument o izradi smjernica o zahtjevima kvalitete lijekova koji sadrže medicinski proizvod za dostavu ili uporabu lijeka „EMA/CHMP/QWP/BWP/661488/2016 *Concept paper on developing a guideline on Quality requirements of medicinal products containing a device component for delivery or use of the medicinal product*”. Definirati će se smjernice koje će uzeti u obzir zahtjeve kvalitete u odnosu na sigurnost i performanse medicinskog proizvoda, bilo da je ona integralna komponenta ili samostalni uređaj, uključujući i studije upotrebljivosti kod ciljnih pacijenata s odgovarajućim kliničkim uvjetima. Također će se razmotriti i upravljanje promjenama tijekom životnog ciklusa kombiniranih proizvoda i to će uključivati zahtjeve za izmjenama u kvaliteti kombiniranih proizvoda.

5. ZAKLJUČAK

Neoštećena koža nepropusna je za većinu lijekova stoga je za uspješnu transdermalnu primjenu lijeka potrebna primjena bilo kemijskih ili fizičkih pojačivača prijenosa lijeka. Jedan od fizičkih pojačivača su mikroigle koje predstavljaju manje invazivnu i bolnu primjenu u usporedbi s potkožnim iglama.

Mikroigle se mogu uspješno koristiti za ciljanu isporuku malih molekula, makromolekula, cjepiva i nukleinskih kiselina u specifična tkiva, te za primjenu lijekova koji se prenose pasivnom difuzijom kroz rožnati sloj kože. Zbog mnogobrojnih prednosti primjene mikroigli znanstvenici pokazuju veliko zanimanje za mikroigličnu tehnologiju što pokazuje brzo rastući broj znanstvenih radova i patentnih publikacija pa je njihova primjena proširena i na okularnu primjenu i ciljanu dostavu lijekova.

Tržište za uspješnu industrijsku proizvodnju MN postoji, ali industrijska proizvodnja još uvijek nije u potpunosti razvijena zbog težine prilagodbe proizvodnje iz laboratorijskih u industrijska mjerila te zbog ne postojanje prihvaćenih regulatornih standarda ni jasno definiranih standarda kvalitete.

EMA je objavila novi konceptni dokument o izradi smjernica o zahtjevima kvalitete lijekova koji sadrže medicinski proizvod za dostavu ili uporabu lijeka „EMA/CHMP/QWP/BWP/661488/2016 *Concept paper on developing a guideline on Quality requirements of medicinal products containing a device component for delivery or use of the medicinal product*“. MN mogu prodrijeti i kroz naudaljenije slojeve kože što ukazuje na drugačiji mehanizam djelovanja naspram konvencionalnih transdermalnih flastera koji se primjenjuju samo na površinu kože te se iz regulatorne perspektive može zaključiti da će MN biti definirane kao novi dozni oblik.

6. LITERATURA

1. Couturaud V. - Biophysical Characteristics of the Skin in Relation to Race, Sex, Age, and Site. U: Barel AO, Paye M, Maibach HI, ur. Handbook of Cosmetic Science and Technology. Informa Healthcare,2009;5-24.
2. Benson HAE. - Skin Structure, Function, and Permeation. U: Benson HAE, Watkinson AC, ur. Transdermal and Topical Drug Delivery. John Wiley & Sons, Inc.,2012; 3-22.
3. Verma G. Transdermal drug delivery system, advance development and evaluation – a review. Int J Pharm Sci Res 2017;8(2):385-400.
4. Alkilani AZ, McCrudden MTC, Donnelly RF. Transdermal Drug Delivery: Innovative Pharmaceutical Developments Based on Disruption of the Barrier Properties of the stratum corneum. Pharmaceutics 2015;7:438-70.
5. Wokovich AM, Prodduturi S, Doub WH, Hussain AS, Buhse LF. Transdermal drug delivery system (TDDS) adhesion as a critical safety, efficacy and quality attribute. Eur J Pharm Biopharm 2006;64:1-8.
6. Ph. Eur. 9.0, 1011 (01/2008). Available at: <http://online6.edqm.eu/ep905/>. Accessed November 7, 2017.
7. Nguyen J, Ita KB, Morra MJ, Popova IE. The Influence of Solid Microneedles on the Transdermal Delivery of Selected Antiepileptic Drugs. Pharmaceutics 2016;8:1-13.
8. Tuan-Mahmood TM, McCrudden MTC, Torrisi B, i sur. Microneedles for intradermal and transdermal drug delivery. Eur J Pharm Sci 2013;50:623-37.
9. Thomas BJ, Finnin BC. The transdermal revolution. Drug Discovery Today 2004;9:697-703.
10. Lademann J, Richter H, Schaefer S, Blume-Peytavi U, Teichmann A, Otberg N, Sterry W. Hair follicles – A Long-Term Reservoir for Drug Delivery. Skin Pharmacol. Physiol 2006, 19, 232–6.
11. Uchechi O, Ogbonna JDN, Attama AA. Nanoparticles for Dermal and Transdermal Drug Delivery. U: Sezer AD, ur. Application of Nanotechnology in Drug Delivery. IntechOpen 2014;193-235.

12. American Pharmaceutical Review: Status Quo, Challenges and Opportunities of Transdermal Drug Delivery, 2014. Available at: <https://www.americanpharmaceuticalreview.com/Featured-Articles/169470-Status-Quo-Challenges-and-Opportunities-of-Transdermal-Drug-Delivery/>. Accessed November 14, 2017.
13. Sharma N, Parashar B, Sharma S, Mahajan U. Blooming Pharma Industry with Transdermal Drug Delivery System. *Indo Global J Pharm Sci* 2012;2(3):262-78.
14. Brown MB, Martin GP, Jones SA, Akomeah FK. Dermal and Transdermal Drug Delivery Systems: Current and Future Prospects. *Drug Delivery* 2006;13(3):175-187.
15. Kim YC, Park JH, Prausnitz MR. Microneedles for drug and vaccine delivery. *Adv Drug Deliv Rev* 2012;64:1547-68.
16. Escobar-Chávez JJ, Bonilla-Martínez D, Villegas-González MA, Molina-Trinidad E, Casas-Alancaster N, Revilla-Vázquez AL. Microneedles: A Valuable Physical Enhancer to Increase Transdermal Drug Delivery. *J Clin Pharmacol* 2011;51:964-77.
17. Prausnitz MR, Langer R. Transdermal drug delivery. *Nat Biotechnol* 2008;26(11):1261-8.
18. Lee H, Song C, Baik S, Kim D, Hyeon T, Kim DH. Device-assisted transdermal drug delivery. *Adv Drug Deliv Rev* 2018;127:35-45.
19. Gratieri T, Alberti I, Lapteva M, Kalia YN. Next generation intra- and transdermal therapeutic systems: using non- and minimally-invasive technologies to increase drug delivery into and across the skin. *Eur J Pharm Sci* 2013;50:609-22.
20. Pastore MN, Kalia YN, Horstmann M, Roberts MS. Transdermal patches: history, development and pharmacology. *Br J Pharmacol* 2015;172:2179–209.
21. Benson HAE. Transdermal Drug Delivery: Penetration Enhancement Techniques. *Current Drug Delivery* 2005;2:23-33.
22. Cross SE, Roberts MS. Physical Enhancement of Transdermal Drug Application: Is Delivery Technology Keeping up with Pharmaceutical Development? *Current Drug Delivery* 2004;1:81-92.

23. Dedakia A, Matholiya C, Koyani V, Bhimani D. Three generations: primary, secondary and tertiary generations of transdermal drug delivery systems: a review. *Int J Pharm Sci Res* 2013;4(6):2159-73.
24. Prescribing Information Catapres-TTS® Boehringer Ingelheim. Available at: https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2012/018891s028lbl.pdf. Accessed on November 3, 2017.
25. Naik A, Kalia YN, Guy RH. Transdermal drug delivery: overcoming the skin's barrier function. *Pharm Sci Technolo Today* 2000;3(9):318-26.
26. Kalluri H, Banga AK. Transdermal delivery of proteins. *AAPS PharmSciTech* 2011;12(1):431-441.
27. Banga AK, Prausnitz MR. Assessing the potential of skin electroporation for the delivery of protein- and gene-based drugs. *Trends Biotechnol* 1998;16(10):408-12.
28. Sintov AC, Krymberk I, Daniel D, Hannan T, Sohn Z, Levin G. Radiofrequency-driven skin microchanneling as a new way for electrically assisted transdermal delivery of hydrophilic drugs. *J Control Release* 2003;89(2):311-20.
29. Press Release 2012: The PassPort™ advanced drug delivery system. <https://www.nitto.com/eu/en/press/2012/0425.jsp>. Accessed 19.11.2017.
30. PassPort® Transdermal Microporation Technology. <http://www.ndtcorp.com/passport-technology.php>. Accessed 27.11.2017.
31. Park D, Park H, Seo J, Lee S. Sonophoresis in transdermal drug deliveries. *Ultrasonics* 2014;54(1):56-65.
32. Murthy SN, Sammeta SM, Bowers C. Magnetophoresis for enhancing transdermal drug delivery: Mechanistic studies and patch design. *J Control Release* 2010;148:197-203.
33. Marwah H, Garg T, Goyal AK, Rath G. Permeation enhancer strategies in transdermal drug delivery. *Drug Delivery* 2016;23(2):564-78.

34. Patil PM, Chaudhari PD, Patel JK, Kedar KA, Katolkar PP. Recent trends in challenges and opportunities of Transdermal drug delivery system. *Int J Drug Dev & Res* 2012;4(1):39-50.
35. Kale TR, Momin M. Needle free injection technology - An overview. *Inov Pharm* 2014;5(1):1-8.
36. Yu J i sur. Microneedle-array patches loaded with hypoxia-sensitive vesicles provide fast glucose-responsive insulin delivery. *Proc Natl Acad Sci USA* 2015;112(27):8260-5.
37. Larraneta E, Lutton REM, Woolfson AD, Donnelly RF. Microneedle arrays as transdermal and intradermal drug delivery systems: Materials science, manufacture and commercial development. *Mater. Sci. Eng. R* 2016;104:1-32.
38. Bariya SH, Gohel MC, Mehta TA, Sharma OP. Microneedles: an emerging transdermal drug delivery system. *J Pharm Pharmacol* 2012;64(1):11-29.
39. Zhang P, Dalton C, Jullien GA. Design and fabrication of MEMS-based microneedle arrays for medical applications. *Microsyst Technol* 2009;15:1073-82.
40. Ashraf MW, Tayyaba S, Afzulpurkar N. Micro Electromechanical Systems (MEMS) Based Microfluidic Devices for Biomedical Applications. *Int J Mol Sci* 2011;12:3648-704.
41. Prausnitz MR. Microneedles for transdermal drug delivery. *Adv Drug Deliv Rev* 2004;56:581-587.
42. Kim YC, Park JH, Prausnitz MR, Microneedles for drug and vaccine delivery. *Adv Drug Deliv* 2012;64:1547-68.
43. van der Maaden K, Jiskoot W, Bouwstra J. Microneedle technologies for (trans)dermal drug and vaccine delivery. *J Control Release* 2012;161:645-55.
44. Hong X, Wu Z, Chen L, Wu F, Wei L, Yuan W. Hydrogel microneedle array for transdermal drug delivery. *Nano-Micro Lett* 2014;6(3):191-9.
45. El-Khordagui LK. Microneedles: An Emerging Approach for Active Transdermal Delivery of Insulin. *J Bioequiv Availab* 2012;4(7): xxxi-xxxiii.

46. Ita K. Transdermal Delivery of Drugs with Microneedles-Potential and Challenges. *Pharmaceutics* 2015;7:90-105.
47. Ogundele M, Okafor HK. Transdermal Drug Delivery: Microneedles, Their Fabrication and Current Trends in Delivery Methods. *J Pharmaceut Res Int* 2017;18(5):1-14.
48. Donnelly RF, Singh TRR, Woolfson AD. Microneedle-based drug delivery systems: Microfabrication, drug delivery, and safety. *Drug Delivery* 2010;17(4):187-207.
49. Park JH, Allen MG, Prausnitz MR. Biodegradable polymer microneedles: Fabrication, mechanics and transdermal drug delivery. *J Control Release* 2005;104:51-66.
50. Gittard SD i sur. Pulsed Laser Deposition of Antimicrobial Silver Coating on Ormocer® Microneedles. *Biofabrication* 2009;1(4):1-9.
51. Ovsianikov A, Chichkov B, Mente P, Monteiro-Riviere N, Doraiswamy A, Narayan J. Two Photon Polymerization of Polymer–Ceramic Hybrid Materials for Transdermal Drug Delivery. *Int J Appl Ceram Technol* 2007;4(1)22-9.
52. Indermun S i sur. Current advances in the fabrication of microneedles for transdermal delivery. *J Control Release* 2014;185:130-8.
53. Boksa MA , Ungera WWJ , Engelsa S, Ambrosinia M, van Kooyka Y, Luttgeb R. Controlled release of a model vaccine by nanoporous ceramic microneedle arrays. *Int J Pharm* 2015;491:375-383.
54. Donnelly RF i sur. Hydrogel-forming microneedle arrays exhibit antimicrobial properties: Potential for enhanced patient safety. *Int J Pharm* 2013;451:76–91.
55. Macheuposhti SA, Soltani M, Najafizadeh P, Ebrahimi SA, Chen P. Biocompatible polymer microneedle for topical/dermal delivery of tranexamic acid. *J Control Release* 2017;261:87-92.
56. Indermun S i sur. Current advances in the fabrication of microneedles for transdermal delivery. *J Control Release* 2014;185:130-8.
57. Hong X i sur. Dissolving and biodegradable microneedle technologies for transdermal sustained delivery of drug and vaccine. *Drug Des Dev Ther* 2013;7:945–52.

58. Staples M, Daniel K, Cima MJ, Langer R. Application of Micro- and Nano-Electromechanical Devices to Drug Delivery. *Pharm Res* 2006;23(5):847-63.
59. Vrdoljak A, Allen EA, Ferrara F, Temperton NJ, Crean AM, Moore AC. Induction of broad immunity by thermostabilised vaccines incorporated in dissolvable microneedles using novel fabrication methods. *J Control Release* 2016;225:192-204.
60. Gittard SD, Ovsianikov A, Chichkov BN, Doraiswamy A, Narayan RJ. Two-photon polymerization of microneedles for transdermal drug delivery. *Expert Opin Drug Deliv* 2010;7(4):513-33.
61. Kim JD, Kim M, Yang H, Lee K, Jung H. Droplet-born air blowing: Novel dissolving microneedle fabrication. *J Control Release* 2013;170:430-6.
62. Johnson AR i sur. Single-Step Fabrication of Computationally Designed Microneedles by Continuous Liquid Interface Production. *PLoS ONE* 2016;11(9):1-17.
63. Narayana RJ, Doraiswamy A, Chrisey DB, Chichkov BN. Medical prototyping using two photon polymerization. *Mater. Today* 2010;13(12):42-8.
64. Kochhar JS, Quek TC, Soon WJ, Choi J, Zou S, Kang L. Effect of Microneedle Geometry and Supporting Substrate on Microneedle Array Penetration into Skin. *J Pharm Sci.* 2013;102(11):4100-8.
65. Olatunji O, Das DB, Garland MJ, Belaid L, Donnelly RF. Influence of Array Interspacing on the Force required for Successful Microneedle Skin Penetration: Theoretical and Practical Approaches. *J Pharm Sci* 2013;102(4):1209-21.
66. Sachdeva V, Banga AK. Microneedles and their Applications. *Recent Pat Drug Deliv Formul* 2011;5:95-132.
67. Yan G, Warner KS, Zhang J, Sharma S, Gale BK. Evaluation needle length and density of microneedle arrays in the pretreatment of skin for transdermal drug delivery. *Int J Pharm* 2010;391:7-12.
68. Gomaa YA, Morrow DIJ, Garland MJ, Donnelly RF, El-Khordagui LK, Meidan VM. Effects of microneedle length, density, insertion time and multiple applications on

- human skin barrier function: Assessments by transepidermal water loss. *Toxicol In Vitro* 2010;24:1971-8.
69. Davis SP, Landis BJ, Adams ZH, Allen MG, Prausnitz MR. Insertion of microneedles into skin: measurement and prediction of insertion force and needle fracture force.
 70. Gittard SD i sur. The Effects of Geometry on Skin Penetration and Failure of Polymer Microneedles. *J Adhes Sci Technol*. 2013;27(3):227–43.
 71. Kaushik S i sur. Lack of pain associated with microfabricated microneedles. *Anesth Analg* 2001;92:502–4.
 72. ICH. ICH Q6A Specifications: Test Procedures and Acceptance Criteria for New Drug Substances and New Drug Products: Chemical Substances. Available at: https://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Quality/Q6A/Step4/Q6Astep4.pdf. Accessed May 4, 2018.
 73. Lutton REM, Moore J, Larrañeta E, Ligett S, Woolfson AD, Donnelly RF. Microneedle characterisation: the need for universal acceptance criteria and GMP specifications when moving towards commercialisation. *Drug Deliv Transl Res* 2015;5(4),313-31.
 74. FDA. Combination Products. Available at: <https://www.fda.gov/CombinationProducts/default.htm>. Accessed May 4, 2018.
 75. EMA. Concept paper on developing a guideline on Quality requirements of medicinal products containing a device component for delivery or use of the medicinal product (EMA/CHMP/QWP/BWP/661488/2016). 2016; Available at: https://www.ema.europa.eu/documents/scientific-guideline/concept-paper-developing-guideline-quality-requirements-medicinal-products-containing-device_en.pdf. Accessed June 1, 2018.
 76. EUR-Lex: Directive 2001/83/EC of the European Parliament and of the Council, 2001. Available at: https://ec.europa.eu/health/sites/health/files/files/eudralex/vol-1/dir_2001_83_consol_2012/dir_2001_83_cons_2012_en.pdf. Accessed June 1, 2018.

77. Zakon o lijekovima, 2013. Available at: https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2013_06_76_1522.html. Accessed June 1, 2018.
78. EUR-Lex: Council Directive 93/42/EEC concerning medical devices, 1993. Available at: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/PDF/?uri=CELEX:31993L0042&from=HR>. Accessed June 1, 2018.
79. Zakon o medicinskim proizvodima, 2013. Available at: https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2013_06_76_1521.html. Accessed June 1, 2018.
80. HALMED: Sigurnosne obavijesti o medicinskim proizvodima. Available at: <http://www.halmed.hr/Medicinski-proizvodi/Sigurnosne-informacije/Sigurnosne-obavijesti-o-medicinskim-proizvodima/2017/Nove-Uredbe-za-reguliranje-medicinskih-proizvoda-objavljene-u-Sluzbenom-listu-Europske-unije/1745>. Accessed October 22, 2018.
81. EUR-Lex: Uredba (EU) 2017/745 Europskog parlamenta i vijeća o medicinskim proizvodima, o izmjeni Direktive 2001/83/EZ, Uredbe (EZ) br. 178/2002 i Uredbe (EZ) br. 1223/2009 te o stavljanju izvan snage direktiva Vijeća 90/385/EEZ i 93/42/EEZ. Available at: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/HR/TXT/PDF/?uri=CELEX:32017R0745&from=HR>. Accessed October 22, 2018.
82. EUR-Lex: Uredba (EU) 2017/746 Europskog parlamenta i vijeća o in vitro dijagnostičkim medicinskim proizvodima te o stavljanju izvan snage Direktive 98/79/EZ i Odluke Komisije 2010/227/EU. Available at: https://eur-lex.europa.eu/legal-content/HR/TXT/?uri=uriserv:OJ.L_.2017.117.01.0176.01.HRV&toc=OJ:L:2017:117:TQC. Accessed October 22, 2018.
83. ICH. ICH M4Q(R1) The Common Technical document for the Registration of Pharmaceuticals for Human Use: Quality. Available at: https://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/CTD/M4_R1_Quality/M4Q_R1_.pdf. Accessed June 1, 2018.

84. EMA. QRD Human Product Information Template (Version 10), 2016. Available at: https://www.ema.europa.eu/documents/template-form/qrd-product-information-annotated-template-english-version-10_en.pdf. Accessed June 1, 2018.
85. FDA. 510(k) Summary NanoPass's MicronJet 600, 2010. Available at: https://www.accessdata.fda.gov/cdrh_docs/pdf9/K092746.pdf. Accessed June 1, 2018.
86. Levin Y, Kochba E, Hung I, Kenney R. Intradermal vaccination using the novel microneedle device MicronJet600: Past, present, and future. *Hum Vaccin Immunother* 2015;11(4):991-7.
87. Bal SM, Ding Z, van Riet E, Jiskoot W, Bouwstra JA. Advances in transcutaneous vaccine delivery: Do all ways lead to Rome? *J Control Release* 2010;148(3):266-82.
88. BD Worldwide, First European Application Filed for Product Using Innovative Intradermal Microinjection System BD Soluvia™, 2008. Available at: http://www.bd.com/contentmanager/b_article.asp?Item_ID=23419&ContentType_ID=1&BusinessCode=20001&d=Clinician. Accessed June 1, 2018.
89. EMA. Intanza Product Information. Available at: http://www.ema.europa.eu/docs/hr_HR/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/000957/WC500033852.pdf. Accessed May 4, 2018.

7. ŽIVOTOPIS